



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Matière

# MÉMOIRE DE MASTER

Sciences de la Matière  
Chimie  
Chimie pharmaceutique

Réf. : Entrez la référence du document

---

Présenté et soutenu par :  
**MILOUDI Khaoula**

Le : juin 2022

## **Etude par docking moléculaire d'une nouvelle série de 3-(pyrazin-2-yl)-1H-indazoles comme de puissants inhibiteurs de la kinase PIM-1**

---

### **Jury :**

|                 |              |       |                                     |              |
|-----------------|--------------|-------|-------------------------------------|--------------|
| M <sup>me</sup> | MAZERI Radia | M.C.B | Université Mohamed Khider de Biskra | Présidente   |
| M <sup>me</sup> | ZEKRI Afaf   | M.C.B | Université Mohamed Khider de Biskra | Rapporteuse  |
| M <sup>me</sup> | AGGOUN Siham | M.A.A | Université Mohamed Khider de Biskra | Examinatrice |

Année universitaire : 2021/ 2022



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



## Remerciements

*Ce travail a été réalisé à l'Université Med Khider Biskra, Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences de la Matière spécialité Chimie pharmaceutique*

*Au début, j'ai souhaité adresser mon remerciement les plus sincères aux personnes qui ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.*

*J'exprime également mes chaleureux remerciements aux membres de jury : Mme MAZERJ Radia (M. C. B) Université Mohamed Khider de Biskra et Mme AGGOUN Siham (M. A. A) Université Mohamed Khider de Biskra.*

*Je tiens à remercier tout particulièrement mon rapporteuse Mme ZEKRI Haf pour me suivre et m'avoir conseillé au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Souhaite également remercier toutes mes professeurs pour avoir su me faire confiance et m'avoir conseillée tout au long de ces Cinq années.*

*J'adresse mes remerciements à tous mes collègues. Je voudrais remercier toute ma famille, particulièrement mes frères et sœurs.*

## Dédicaces

*Je Dédie cette présente thèse à ...*

*A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à l'université*

*A Ma Très Chère mère A.M.A*

*Je dédie ce travail spécialement à mon père, qui nous a quitté cette année, que Dieu lui fasse miséricorde.*

**" كل الناس يا أبتى مياه و وحك زمزم يروي فؤاد "**

*Source constante de confiance, d'amour, d'encouragement, de soutien et d'affection.*

*Aucune dédicace n'est assez forte, aucun mot n'est assez éloquent pour exprimer ce que je ressens. Mais à travers ce modeste travail, je voudrais vous dire mon estime et mon respect inégale, magratitude infinie et surtout mon immense amour filial.*

# Table des matières

|                                    |          |
|------------------------------------|----------|
| Remerciements.....                 | I        |
| Table des matières.....            | III      |
| Liste des tableaux.....            | VII      |
| Liste des figures.....             | VIII     |
| Liste des abréviations. ....       | XI       |
| <b>INTRODUCTION GENERALE .....</b> | <b>1</b> |
| Références bibliographiques.....   | 3        |

## **Chapitre I : Partie (A) : Cancer et Myélome multiple. et Partie (B) : Généralités sur l'enzyme et les kinases PIM-1.**

### **Partie (A) : Cancer et Myélome multiple.**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>I. Le cancer .....</b>  | <b>4</b>  |
| <b>I.1. Introduction .....</b>   | <b>4</b>  |
| <b>I.2. Définition .....</b>   | <b>5</b>  |
| <b>I.2.a. Selon l'OMS .....</b>  | <b>5</b>  |
| <b>I.2.b. Selon Larousse de médecine .....</b>                                   | <b>6</b>  |
| <b>I.3. Épidémiologie du cancer .....</b>  | <b>6</b>  |
| <b>I.4. Les différents types de cancer et différentes classifications :.....</b> | <b>7</b>  |
| <b>I.5. La cancérogenèse : .....</b>   | <b>8</b>  |
| <b>I.5.a. Propriétés des cellules cancéreuses .....</b>                          | <b>8</b>  |
| <b>I.5.b. Les étapes de cancérisation .....</b>                                  | <b>9</b>  |
| <b>I.5.b.i. Phase d'initiation .....</b>   | <b>9</b>  |
| <b>I.5.b.ii. Phase de promotion.....</b>   | <b>9</b>  |
| <b>I.5.b.iii. Phase de progression :. ....</b>                                   | <b>9</b>  |
| <b>I.6. Les étapes de la transformation cellulaire tumorale .....</b>            | <b>10</b> |
| <b>I.7. Les causes du cancer :.....</b>  | <b>11</b> |
| <b>I.8. Traitements du cancer :.....</b>   | <b>11</b> |

|  |    |
|--|----|
| I.8.a. Objectifs du traitement : .....         | 11 |
| I.8.b. Types de traitement : .....             | 12 |
| I.8.b.i. La chirurgie : .....                  | 12 |
| I.8.b.ii. La radiothérapie : .....             | 12 |
| I.8.b.iii. Traitements médicamenteux : .....   | 13 |
| I.8.b.iii.1. La chimiothérapie toxique : ..... | 13 |
| I.8.b.iii.2. Hormonothérapie : .....           | 14 |
| I.8.b.iii.3. Thérapies ciblées : .....         | 14 |
| I.8.b.iii.4. Immunothérapie : .....            | 14 |
| II. Myélome multiple .....                     | 15 |
| II.1. Généralités: .....                       | 15 |
| II.2. Histoire de myélome multiple : .....     | 16 |
| II.3. Circonstances de découverte : .....      | 18 |
| II.4. Epidémiologie : .....                    | 19 |
| II.5. Etiologie : .....                        | 20 |
| Références bibliographiques.....               | 22 |

## Partie (B) : Généralités sur l'enzyme et les kinases PIM-1.

|   |    |
|---|----|
| I. Introduction : .....   | 24 |
| II. L'enzyme : .....  | 27 |
| II.1. Le Site Actif : .....   | 27 |
| II.2. Analyses d'inhibition d'enzymes : .....   | 27 |
| II.2.a. Inhibition enzymatique irréversible : .....                                   | 28 |
| II.2.b. Inhibition enzymatique réversible : .....                                     | 29 |
| II.3. Les effecteurs : .....  | 30 |
| II.4. Mécanismes des réactions enzymatiques et points clés de l'apprentissage : ..... | 31 |
| II.5. L'activité enzymatique : .....  | 31 |
| III. Protéines kinases et phosphatases : .....  | 31 |
| III.1. Aperçu des voies de signalisation des protéines kinases : .....                | 32 |
| III.2. Phosphorylation des protéines et maladie : .....                               | 34 |
| III.3. Classification des protéines kinases : .....                                   | 35 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>IV. Présentation des kinases PIM :</b> .....  | <b>35</b> |
| <b>IV.1. Structures de kinases PIM :</b> .....   | <b>35</b> |
| <b>IV.2. Le rôle :</b> .....   | <b>37</b> |
| <b>IV.3. Structure de PIM-1 :</b> .....  | <b>38</b> |
| <b>IV.4. Les inhibiteurs de kinases PIM :</b> .....  | <b>39</b> |
| <b>IV.5. Kinases impliquées dans le déroulement de la différenciation mégacaryocytaire :</b><br><b>Les kinases PIM :</b> ..... | <b>39</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b>  | <b>40</b> |

## **CHAPITRE II : Étude bibliographique sur le docking moléculaire.**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>I. Introduction :</b> .....   | <b>42</b> |
| <b>1. Prédiction des propriétés ADME :</b> .....                         | <b>44</b> |
| <b>1.a. Les propriétés « drug-like » sur la base de Lipinski :</b> ..... | <b>44</b> |
| <b>2.b. La règle de Veber :</b> .....                                    | <b>45</b> |
| <b>2. La concentration 50% d'un inhibiteur IC<sub>50</sub> :</b> .....   | <b>46</b> |
| <b>II. Généralité sur le docking :</b> .....                             | <b>46</b> |
| <b>II.1. La première (le docking).....</b>                               | <b>47</b> |
| <b>II.2. La deuxième (le scoring) :</b> .....                            | <b>47</b> |
| <b>III. Les outils du docking moléculaire :</b> .....                    | <b>47</b> |
| <b>III.1. Ligand :</b> .....   | <b>47</b> |
| <b>III.2. Récepteur :</b> .....  | <b>48</b> |
| <b>IV. Programmes de docking les plus cités :</b> .....                  | <b>49</b> |
| <b>V. Type de docking moléculaires :</b> .....                           | <b>50</b> |
| <b>V.1. Docking rigide :</b> .....                                       | <b>50</b> |
| <b>V.2. Docking flexible :</b> .....                                     | <b>51</b> |
| <b>V.3. Docking semi-flexible :</b> .....                                | <b>51</b> |
| <b>VI. La cible enzymatique :</b> .....                                  | <b>51</b> |
| <b>VII. Etape de docking moléculaire :</b> .....                         | <b>52</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b>                                  | <b>56</b> |

## CHAPITRE III : Resultat et discussion.

|   |           |
|---|-----------|
| <b>I. Introduction :</b> .....  | <b>58</b> |
| <b>II. Méthodes de calcul :</b> .....   | <b>60</b> |
| <b>II.1. Préparation et optimisation d'enzyme et des ligands :</b> .....                | <b>60</b> |
| <b>II.1.a. Préparation et optimisation du récepteur :</b> .....                         | <b>60</b> |
| <b>II.1.b. Préparation des structures de dérivés de l'indazole :</b> .....              | <b>61</b> |
| <b>II.2. Etude des propriétés ADME de dérivés de l'indazole :</b> .....                 | <b>65</b> |
| <b>II.3. Etude de docking moléculaire de dérivés de l'indazole :</b> .....              | <b>65</b> |
| <b>III. Résultats et discussions :</b> .....  | <b>66</b> |
| <b>III.1. Evaluation des propriétés ADME in silico de dérivés de l'indazole :</b> ..... | <b>66</b> |
| <b>III.2. Résultats de docking moléculaire :</b> .....                                  | <b>67</b> |
| <b>IV. Conclusion :</b> .....   | <b>82</b> |
| <b>Références bibliographiques</b> .....  | <b>83</b> |
| <b>CONCLUSION GENERAL</b> .....   | <b>85</b> |

## Liste des tableaux

### Chapitre I

#### Partie (A) : Cancer et Myélome multiple et Partie

|                  |                                      |    |
|------------------|--------------------------------------|----|
| <b>Tableau 1</b> | Les étapes de l'histoire de MM ..... | 16 |
|------------------|--------------------------------------|----|

#### Partie (B) : Généralités sur l'enzyme et les kinases PIM-1.

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Tableau 1</b> | Types d'inhibiteurs couramment rencontrés..... | 28 |
|------------------|--|----|

### Chapitre II

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>Tableau 1</b> | Principaux programmes de docking moléculaire..... | 50 |
|------------------|---|----|

### Chapitre III

|                  |                                    |    |
|------------------|------------------------------------|----|
| <b>Tableau 1</b> | : Données cristallographiques..... | 61 |
|------------------|------------------------------------|----|

|                  |                                       |    |
|------------------|---------------------------------------|----|
| <b>Tableau 2</b> | Structures chimiques des ligands..... | 62 |
|------------------|---------------------------------------|----|

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Tableau 3</b> | Propriétés ADME pour les composés..... | 66 |
|------------------|--|----|

|                 |   |     |
|-----------------|---|-----|
| <b>Tableau4</b> | Résidus de la première cavité détectée par MOE du 4WRS..... | 68. |
|-----------------|---|-----|

|                 |  |    |
|-----------------|--|----|
| <b>Tableau5</b> | Scores et interactions entre les dérivés de l'indazole sélectionnés et les résidus du site actif de la protéine (ID : 4WRS)..... | 70 |
|-----------------|--|----|

# Liste des figures

## Chapitre I

### Partie (A) : Cancer et Myélome multiple et Partie

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>Figure 1.</b> | Cellule mutante à l'origine d'un clone.....   | 4  |
| <b>Figure 2.</b> | Cellule cancéreuse.....   | 6  |
| <b>Figure 3.</b> | Incidence du cancer dans le monde pour l'année 2018.....                                  | 7  |
| <b>Figure 4.</b> | Propriétés des cellules cancéreuses.....  | 9  |
| <b>Figure 5.</b> | Les étapes de cancérogénèse.....  | 10 |
| <b>Figure 6.</b> | Mortalité ajustée à l'âge par lymphomes et myélomes multiples pour 100 000 habitants..... | 20 |

### Partie (B) : Généralités sur l'enzyme et les kinases PIM-1.

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Figure 1.</b> | Pim kinases dans le cancer. Voies des Pim kinases .....  | 25 |
| <b>Figure 2.</b> | Le kinome humain.....  | 26 |
| <b>Figure 3.</b> | Inhibiteur compétitif.....   | 29 |
| <b>Figure 4.</b> | Inhibiteur non-compétitive.....  | 30 |
| <b>Figure 5.</b> | Inhibiteur incompétitif.....   | 30 |
| <b>Figure 6.</b> | Les réactions de phosphorylation et de déphosphorylation sont catalysées, respectivement, par des protéines kinases et des protéines phosphatases..... | 32 |
| <b>Figure 7.</b> | Réseaux de signalisation des kinases médiées par les récepteurs.....   | 34 |
| <b>Figure 8.</b> | Gènes, transcrits et les différentes isoformes des kinases PIM.....  | 36 |

|                   |  |    |
|-------------------|--|----|
| <b>Figure 9.</b>  | Alignements des séquences protéiques des membres de la famille Pim humain..... | 37 |
| <b>Figure 10.</b> | Structure cristalline de la kinase PIM-1 (PDB 1×QZ). .....                     | 38 |

## Chapitre II

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Figure 1.</b> | Représentation schématique du docking de deux molécules.....   | 43 |
| <b>Figure 2.</b> | Les règles de Lipinski s'appliquent à la morphine. La morphine satisfait à toutes les règles de Lipinski et a une biodisponibilité de 33 % chez l'homme..... | 45 |
| <b>Figure 3.</b> | Principe général d'un programme de docking .....   | 47 |
| <b>Figure 4.</b> | Comparaison des programmes de docking les plus cités.....  | 49 |

## Chapitre III

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Figure 1.</b> | Procédure suivie dans l'étude de docking moléculaire.....  | 59 |
| <b>Figure 2.</b> | Structure du récepteur kinase PIM-1 humaine (ID : 4WRS).....   | 60 |
| <b>Figure 3.</b> | Modèle simplifié et la cavité choisie du récepteur à la kinase PIM-1.....  | 69 |
| <b>Figure 4.</b> | Interactions entre le ligand 13k et les résidus de site actif de la protéine (ID : 4WRS). (Images (A) 2D et (B) 3D)..... | 75 |
| <b>Figure 5.</b> | Interactions entre le ligand 13n et les résidus de site actif de la protéine (ID : 4WRS). (Images (A) 2D et (B) 3D)..... | 76 |
| <b>Figure 6.</b> | Interactions entre le ligand 13p et les résidus de site actif de la protéine (ID : 4WRS). (Images (A) 2D et (B) 3D)..... | 77 |
| <b>Figure 7.</b> | Interactions entre le ligand 18c et les résidus de site actif de la protéine (ID : 4WRS). (Images (A) 2D et (B) 3D)..... | 78 |
| <b>Figure 8.</b> | Interactions entre le ligand 13b et les résidus de site actif de la protéine (ID :                                       |    |

4WRS). (Images (A) 2D et (B) 3D).....79

**Figure 9.** Interactions entre le ligand 18l et les résidus de site actif de la protéine (ID :

4WRS). (Images (A) 2D et (B) 3D).....80

## Liste des abréviations

|                     |   |
|---------------------|---|
| <b>2D et 3D :</b>   | Deux et trois dimensions  |
| <b>5-ring :</b>     | Cycle a 5 chénonnes,  |
| <b>6-ring :</b>     | Cycle a 6 chénonnes   |
| <b>Å :</b>          | Angstrom.   |
| <b>ABS :</b>        | Absorption.   |
| <b>ADME :</b>       | Absorption, Distribution, Metabolism and Elimination.   |
| <b>ADN :</b>        | Acide Désoxyribo Nucléique.   |
| <b>AM1 :</b>        | Le modèle 1 d'Austin 1 (Austrin Model 1).   |
| <b>APC tumeur :</b> | La protéine APC, adenomatous polyposis coli, est une molécule de régulation de la concentration en $\beta$ -caténine. Chez l'homme, elle est codée par le gène APC, situé sur le chromosome 5.  |
| <b>ARN :</b>        | Acide ribonucléique.  |
| <b>ARNm :</b>       | Acide Ribonucléique messenger.  |
| <b>ASP :</b>        | Acide Aspartique.   |
| <b>ATP :</b>        | Adénosine triphosphate.   |
| <b>B3LYP :</b>      | Becke 3-Parameter Lee-Yang-Parr.  |
| <b>CD34+ :</b>      | <b>Cellules CD34+</b><br>Origine : masse cellulaire interne ou blastocystes.<br>Fonction : réparer les dommages cellulaires.<br>Division : Illimité Puissance.<br>Pluripotente ou Totipotente.                      Auto-renouvellement : Oui |

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| <b>CIRC :</b>                  | Le Centre International de Recherche sur le Cancer.   |
| <b>CR :</b>                    | Les récepteurs de cytokine.   |
| <b>CSP :</b>                   | Cellules souches périphériques.   |
| <b>GLU :</b>                   | Acide Glutamique.   |
| <b>GPCR :</b>                  | Les récepteurs couplés aux protéines G.   |
| <b>GTP :</b>                   | Guanosine triphosphate.   |
| <b>Ha-ras<br/>l'oncogène :</b> | Un des protooncogènes mutés dans les cancers humains est le gène H-ras. Sous sa forme normale (non mutée), la protéine H-ras stimule la multiplication cellulaire uniquement lorsqu'elle reçoit un signal de prolifération. |
| <b>HBA :</b>                   | Hydrogen-Bond Acceptors   |
| <b>HBD :</b>                   | Hydrogen-Bond Donors.   |
| <b>HOH :</b>                   | L'eau.  |
| <b>HOXA9 :</b>                 | Le gène HOXA9 est localisé sur le chromosome 7.   |
| <b>IC<sub>50</sub> :</b>       | La concentration molaire en inhibiteur, nécessaire pour inhiber 50 % de l'activité enzymatique.   |
| <b>ILE :</b>                   | Isoleucine.   |
| <b>LAM :</b>                   | Leucémie Aigüe Myéloïde.  |
| <b>LEU :</b>                   | Leucine.  |
| <b>LLC :</b>                   | La leucémie lymphoïde chronique.  |
| <b>Log P :</b>                 | Coefficient de partition eau / octanol.   |
| <b>LYS :</b>                   | Lysine.   |
| <b>MM :</b>                    | Le myélome multiple.  |
| <b>MO :</b>                    | Moelle osseuse.   |
| <b>MOE :</b>                   | Molecular Operating Environment.  |
| <b>MP3 :</b>                   | La méthode de paramétrage 3 (Parametric Method 3).  |
| <b>MPO :</b>                   | D'optimisation multiparamétriques.  |

|                     |  |
|---------------------|--|
| <b>MW :</b>         | Molecular weight.  |
| <b>nM :</b>         | Nanomètre.   |
| <b>NROTB :</b>      | Number of Rotatable Bonds  |
| <b>NRTK :</b>       | Le recrutement de tyrosine kinases non réceptrices intracellulaires.   |
| <b>O :</b>          | Oxygène.   |
| <b>OMS :</b>        | Organisation mondiale de la santé.   |
| <b>RMSD :</b>       | Root-Mean-Square Deviation   |
| <b>P53 tumeur :</b> | Parfois surnommée « gardienne du génome », est un facteur de transcription qui se lie à l'ADN pour réguler de multiples fonctions cellulaires importantes comme la régulation du cycle cellulaire, l'autophagie ou l'apoptose. |
| <b>PDB :</b>        | Protein Data Bank  |
| <b>PIM:</b>         | Site d'intégration du provirus du virus de la leucémie murine de Moloney (Proviral Integration site for Moloney murine leukemia virus)   |
| <b>pH :</b>         | Potentiel hydrogène est la mesure de l'acidité ou de la basicité d'une solution.   |
| <b>PHE :</b>        | Phénylalanine  |
| <b>PK :</b>         | Protéines kinases.   |
| <b>PSA :</b>        | La surface polaire (Polar Surface Area).   |
| <b>RMN :</b>        | Résonance magnétique nucléaire.  |
| <b>RMSD :</b>       | Root mean square deviation   |
| <b>RSTK :</b>       | Les récepteurs à sérine/thréonine kinases.   |
| <b>RTK :</b>        | Les récepteurs à tyrosine kinase   |
| <b>SER :</b>        | Sérine   |

**TK :** Tyrosine Kinases.

**TPO :** La polyploïdisation de ces cellules traitées par la Thrombopoïétine.

**TPSA :** Topological Polar Surface Area

**u.m.a :** Unité de masse atomique.

**VAL :** Valine

**VDW :** Van der Waals

## INTRODUCTION GENERALE :

Le développement de médicaments est l'une des interfaces les plus importantes entre la biochimie et la médecine. Dans la plupart des cas, les médicaments agissent en se fixant sur des récepteurs spécifiques ou des enzymes et en inhibant ou en modulant de quelque manière leur activité. Un médicament efficace est cependant bien plus qu'un puissant modulateur de sa cible. Les médicaments doivent pouvoir être facilement administrés aux patients, l'idéal étant sous la forme de petits comprimés pris oralement, et doivent être stables suffisamment longtemps dans le corps pour atteindre leurs cibles. De plus, pour éviter des effets physiologiques indésirables, les médicaments ne doivent pas moduler les propriétés d'autres biomolécules que leurs cibles. Ces exigences limitent considérablement le nombre de composés qui ont le potentiel de devenir des médicaments cliniquement utiles [1].

La bio-informatique est un domaine à forte interdisciplinarité qui utilise des techniques et des concepts de l'informatique, la génétique, la biochimie, la chimie, des mathématiques, des statistiques, etc. Les recherches dans cette discipline consistent à développer des méthodes pour la collection, le stockage, l'organisation, la visualisation et l'analyse des données biologiques. Il ensuit le développement de méthodes de prédiction propres à chaque problématique. La bio-informatique structurale est une des composantes de la bio-informatique qui se réfère principalement à l'étude des macromolécules et plus particulièrement à celle des protéines [2].

Toute vie dépend du bon fonctionnement d'une grande variété de catalyseurs organiques ou enzymes. Les structures biologiques correspondent à des fonctions bien définies et la vie d'un organisme dépend du rôle des structures biologiques [3].

Les interactions entre protéines sont à la base de la plupart des mécanismes biologiques. Les détails de ces interactions, au niveau moléculaire, sont donc d'un très grand intérêt et peuvent être étudiés par cristallographie aux rayons X ou résonance magnétique nucléaire (RMN).

Malheureusement, ces techniques ne permettent pas de détailler la totalité de ces interactions étant donné le nombre incalculable de molécules différentes au sein d'une seule cellule [2].

Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales mentionnée ci-dessus. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie, chimie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [2].

Le myélome multiple (MM) est la deuxième tumeur maligne hématologique la plus fréquente. Malgré les progrès récents en matière de traitement, il reste incurable, ce qui indique la nécessité de poursuivre les recherches de stratégies d'intervention thérapeutique innovantes [4].

Notre objectif de travail est d'étudier les interactions existantes entre une série nouvellement synthétisée développer des nouveaux inhibiteurs pan-PIM puissant avec l'enzyme (ID :4WRS) et spécifique pour le traitement du myélome multiple et d'autres hémopathies malignes en combinant entre deux méthodes : docking moléculaire et propriétés ADME.

Le travail présenté dans ce mémoire porte trois chapitres :

**Le chapitre I :** Il est consacré pour deux parties :

- Partie (A) : Cancer et myélome multiple.
- Partie (B) : Généralités sur l'enzyme et les kinases PIM-1.

**Le chapitre II :** Étude bibliographique sur le docking moléculaire.

**Le chapitre III :** Nous avons analysé et discuté les résultats obtenus.

## Références bibliographiques :

[1] Berg, J. ; Tymoczko, J. ; Stryer, L., Biochimie. Edition :7. Springer : 2013.

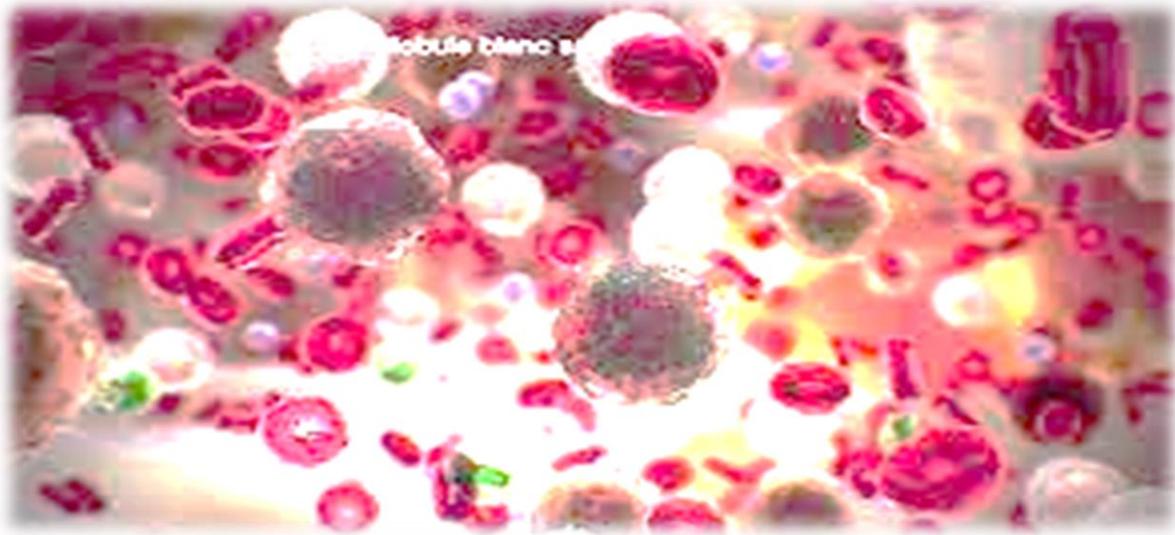
[2] Saugues, E., Synthèse de nouveaux inhibiteurs de kinases Pim et de modulateurs des protéines de la famille des Bcl-2, anticancéreux potentiels. Thèse de doctorat Université Blaise Pascal, 2011.

[3] Kévin, A., Etude de la stabilité et des mécanismes d'action de la protéine kinase oncogénique Pim-2 dans la Leucémie Aigüe Myéloïde. Thèse de doctorat Université Paris Descartes (Paris V), 2014.

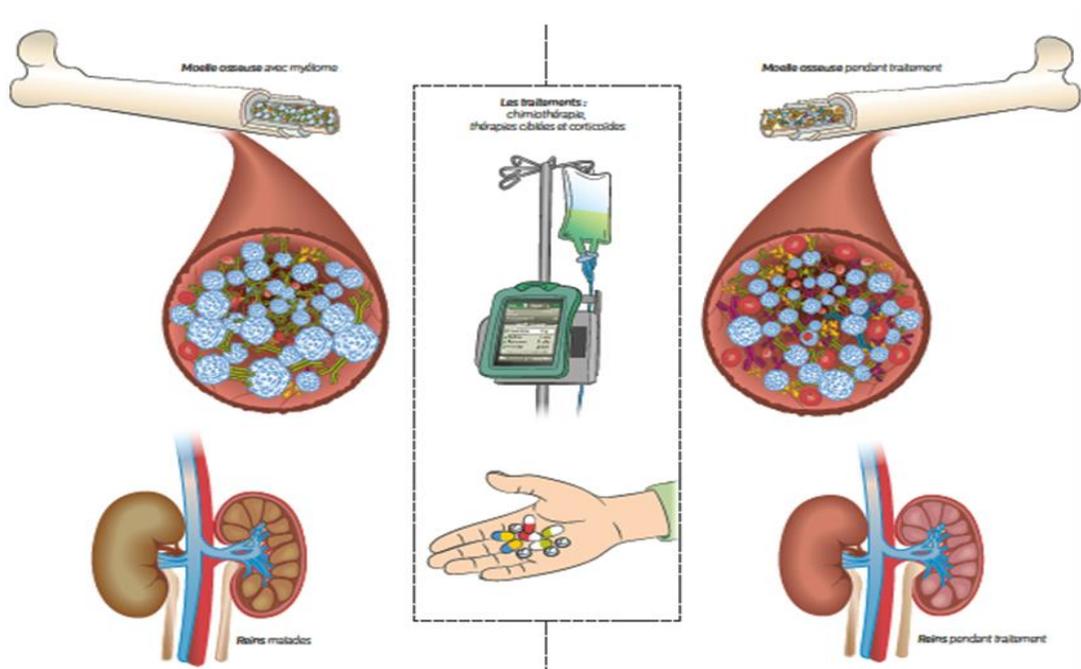
[4] Wang, H.-L.; Cee, V. J.; Chavez Jr, F.; Lanman, B. A.; Reed, A. B.; Wu, B.; Guerrero, N.; Lipford, J. R.; Sastri, C.; Winston, J., The discovery of novel 3-(pyrazin-2-yl)-1H-indazoles as potent pan-Pim kinase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2015, 25 (4), 834-840.

## **Chapitre I :**

- **Partie (A) : Cancer et Myélome multiple.**
- **Partie (B) : Généralités sur l'enzyme et les kinases PIM-1.**



## Partie (A) : Cancer et Myélome multiple.



# I. Le cancer :

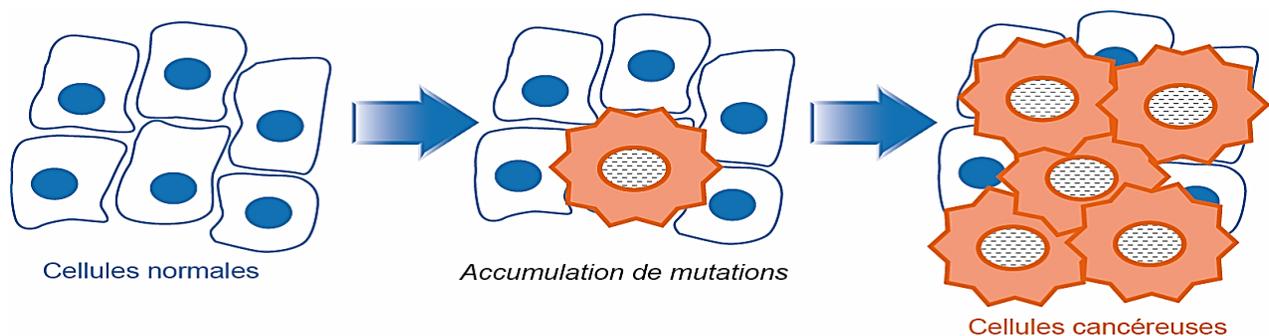
## I.1. Introduction :

Le cancer est une maladie résultant d'altérations de l'ADN cellulaire. Les cellules atteintes par ces altérations (cellules malignes) ne suivent plus le processus normal de mort cellulaire programmée, l'apoptose, et deviennent immortelles. Elles se nourrissent par formation de nouveaux vaisseaux sanguins ; on appelle ce processus l'angiogenèse. Ces cellules ont la capacité d'envahir et de coloniser les tissus environnants.

Le développement d'un cancer est le résultat d'une combinaison entre, d'une part, l'activation de la prolifération cellulaire et, d'autre part, l'inhibition de signaux restreignant le potentiel prolifératif des cellules. Différents agents conduisent au développement d'un cancer [1].

Le cancer est caractérisé par une aberration dans la croissance cellulaire, dans la prolifération et dans les voies de survies cellulaires entraînant une expansion incontrôlable des cellules cancéreuses et de la formation tumorale [2].

Le cancer est un terme général pour n'importe quelle maladie pour lesquelles certaines cellules du corps humain se divisent d'une manière incontrôlée. Les nouvelles cellules résultantes peuvent former une tumeur maligne (un néoplasme) ou se propager à travers le corps et former des métastases [3].



**Figure 1 :** Cellule mutante à l'origine d'un clone [4].

Le cancer n'est pas seulement un axe crucial de santé publique, c'est également un problème social. Cela peut principalement s'expliquer du fait que la vision populaire du cancer se décline et se déforme bien en dehors de la réalité médicale.

Tout d'abord, au cancer est quasi systématiquement associée l'image de mourants, condamnés pour lesquels la médecine et la science ne peuvent que s'acharner inhumainement et en vain : le cancer représente la mort violente précédée de la déchéance physique, celle que personne ne souhaite et qui inspire universellement la peur. À cela vient s'ajouter le fait que le cancer est bien souvent interprété de façon exclusive soit comme fatalité, soit sous l'angle causal [5].

Le cancer est devenu un enjeu majeur de santé publique à l'échelle planétaire tant dans les pays développés que ceux en voie de développement et une des principales causes de mortalité (OMS, 2015). Pour l'année 2015, 8,8 millions de décès sont imputables au cancer soit 13,5 % des décès enregistrés dans le monde. Plus de 32,6 millions de personnes vivent avec le cancer dont 14,1 millions de nouveaux cas chaque année (OMS, 2015).

En Algérie la première place revient au cancer du sein chez la femme ou au cancer des poumons chez l'homme (OMS ,2014) [3].

Il est aussi une maladie génétique, causée par l'acquisition de mutations qui peuvent être déclenchées par plusieurs substances ou agents. Ces facteurs peuvent être chimiques, physiques ou encore biologiques. Une susceptibilité génétique héréditaire est également mise en cause. Tous ces éléments font du cancer une maladie extrêmement complexe, multifactorielle et hétérogène [6].

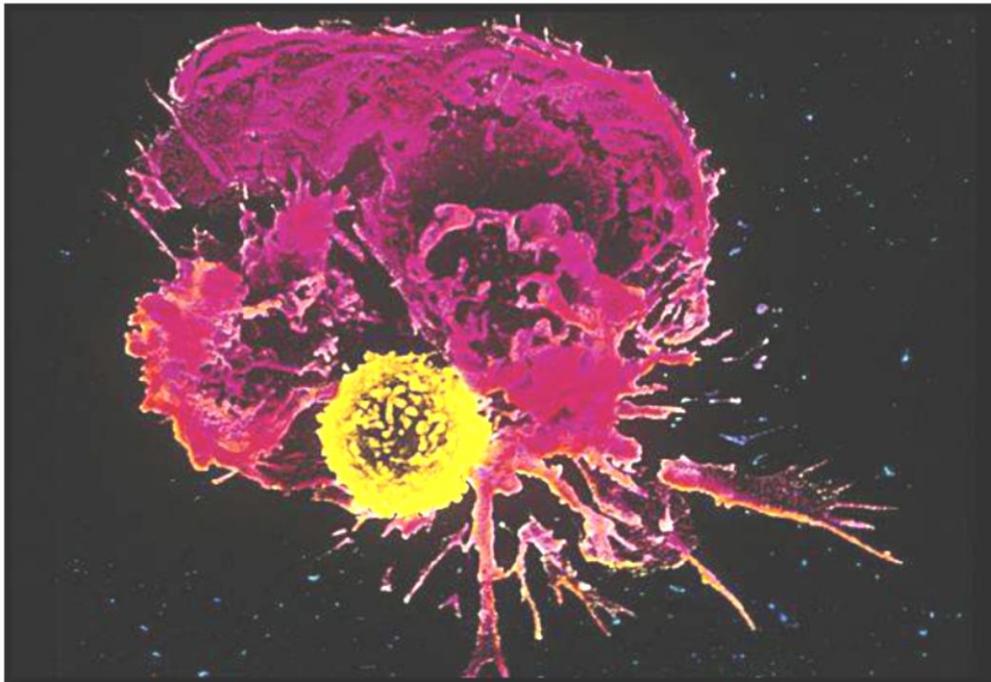
## **I.2. Définition:**

### **I.2.a. Selon l'OMS :**

« Cancer » est un terme général appliqué à un grand groupe de maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une de ses caractéristiques est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent essaimer dans d'autres organes, formant ce qu'on appelle des métastases [8], [7], [3] et [1].

### **I.2.b. Selon Larousse de médecine :**

- i.** Le cancer désigne les tumeurs malignes c'est une prolifération anarchique de cellules anormales dites « malignes » à partir d'un foyer primitif pouvant récidiver localement après ablation et essaimer à distance, entraînant la formation des métastases.
- ii.** Cancer : est dû à des altérations génétiques qui perturbent l'équilibre entre stimulation et inhibition de la prolifération cellulaire. Le cancer est une maladie résultant d'altérations de l'ADN cellulaire, survenant dans 90% des cas dans les cellules somatiques [1].



**Figure 2 :** Cellule cancéreuse [9], [3].

### **I.3. Épidémiologie du cancer :**

Selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), On estime que le taux mondial du cancer a atteint 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès en 2018. Un homme sur cinq et une femme sur six dans le monde développeront un cancer au cours de leur vie, et un homme sur huit et une femme sur onze meurent de cette maladie. À l'échelle mondiale, le nombre total de personnes vivant avec un cancer dans les cinq ans suivant le diagnostic, appelé prévalence à cinq ans, est estimé à 43,8 millions.

Le cancer du poumon est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez l'homme (14,5 %), suivi par le cancer de la prostate (13,1 %), puis le cancer colorectal (10,9 %).

Par contre chez la femme, le cancer du sein occupe la première place avec 24,2 %, suivi par le cancer du poumon (13,8 %) et le cancer colorectal (9,5 %).

En Algérie, le cancer représente la deuxième cause de mortalité (après les maladies cardiovasculaires) avec un pourcentage de 21% [7].

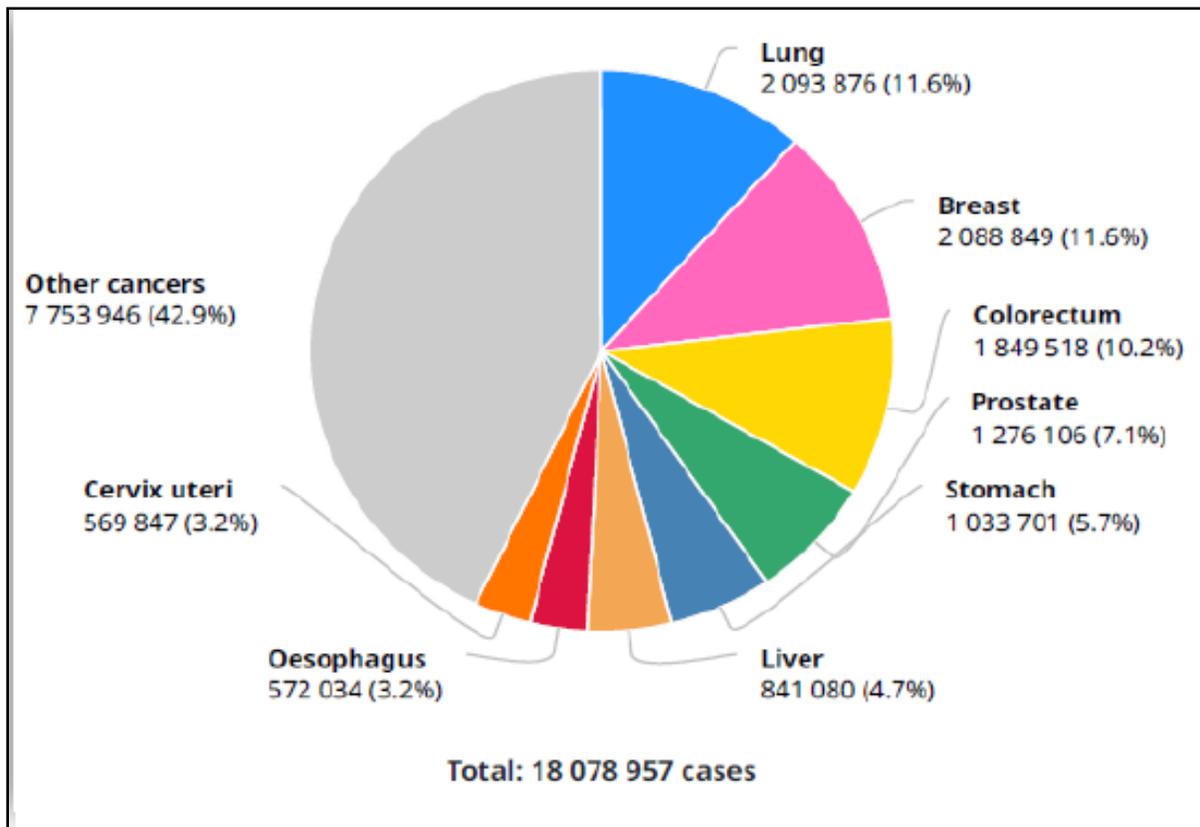


Figure 3 : Incidence du cancer dans le monde pour l'année 2018 [7].

#### I.4. Les différents types de cancer et différentes classifications :

Il n'existe pas un cancer mais une multitude de cancers pouvant se développer à partir de presque tous les tissus. La classification des cancers s'est établie selon le type de cellule, de tissus ou l'origine affecté initialement. On distingue ainsi quatre grandes familles de cancer :

- ❖ **Les carcinomes** sont les plus fréquents (plus de 85 %). Ils représentent les tissus épithéliaux recouvrant les surfaces internes ou externes des glandes et des organes.

- ❖ **Les sarcomes** concernent les tissus conjonctifs de soutien, comme les os, la graisse ou les muscles. Ils sont cependant très rares (moins de 1 %).
- ❖ **Les lymphomes** sont les cancers du tissu hématopoïétique permettant la formation de toutes les cellules du sang. Les foyers impliqués sont le plus souvent les ganglions lymphatiques.
- ❖ **Les leucémies** concernent les tissus de la moelle osseuse responsable de la production des globules blancs [3].

La classification des cancers selon l'organe touché est la plus connue. Les plus fréquents sont :

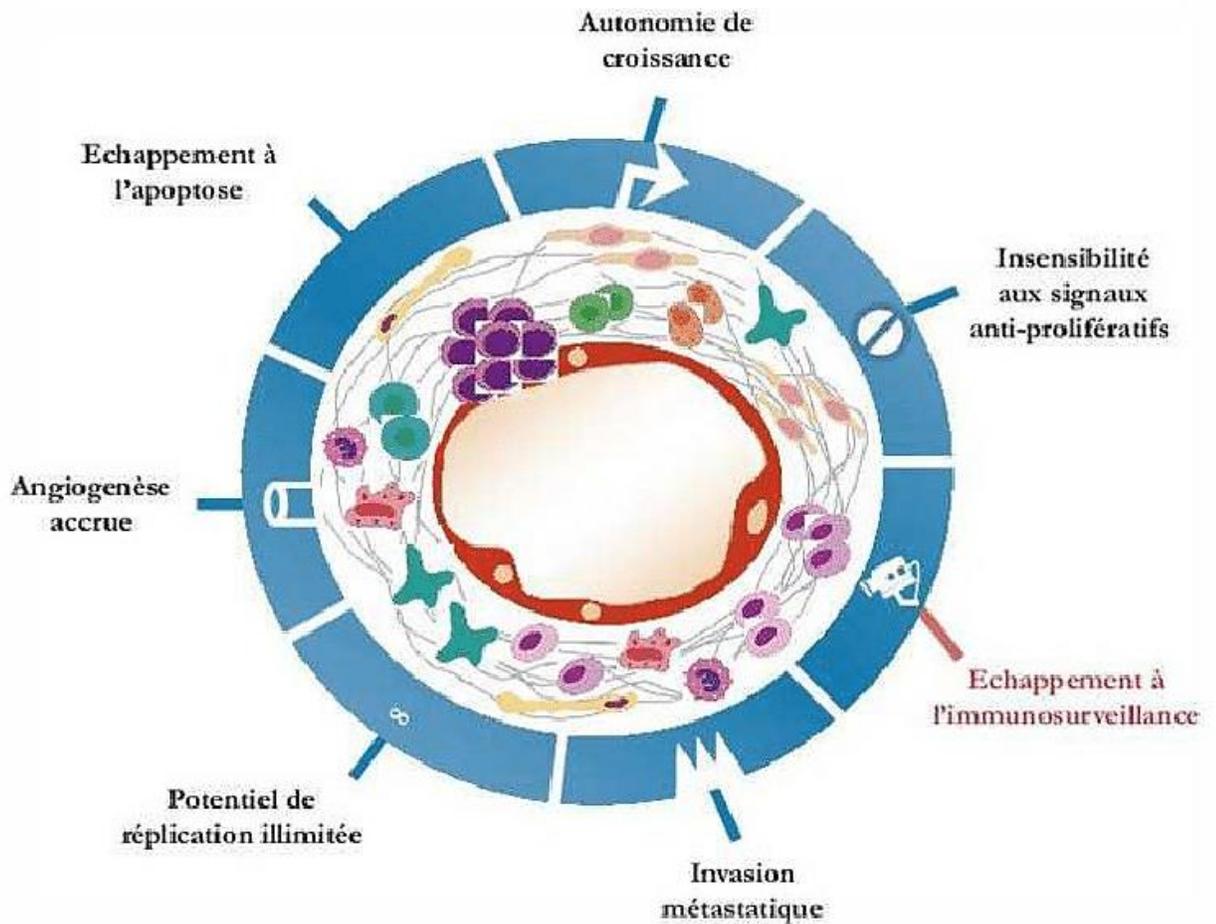
- ❖ Le cancer du poumon.
- ❖ Le cancer du sein.
- ❖ Le cancer du côlon.
- ❖ Le cancer du foie.
- ❖ Le cancer du pancréas.
- ❖ Le cancer du sang ou leucémie.
- ❖ Le cancer de la moelle osseuse ou myélome multiple.
- ❖ Le cancer des vaisseaux sanguins ou sarcome de Kaposi.
- ❖ Lymphomes maladie de Hodgkin et lymphomes non hodgkiniens [10], [8] et [1].

## I.5. La cancérogenèse :

C'est un ensemble d'événements qui conduisent à la transformation d'un tissu physiologique (normal) en tissu cancéreux ainsi qu'une accumulation d'altérations génétiques et une acquisition progressive des propriétés des cellules cancéreuses [3].

### I.5.a. Propriétés des cellules cancéreuses :

- Insensibilité aux signaux extérieurs : perte de l'inhibition du contact.
- Formation anormale de vaisseaux : néoangiogenèse.
- Échappement aux défenses immunitaires.
- Potentiel de prolifération illimité « immortalisation ».
- Échappement à la mort cellulaire programmée.
- Prolifération incontrôlée : processus autocrine.
- Invasion des tissus et création de métastases [3].



**Figure 4 :** Propriétés des cellules cancéreuses [3].

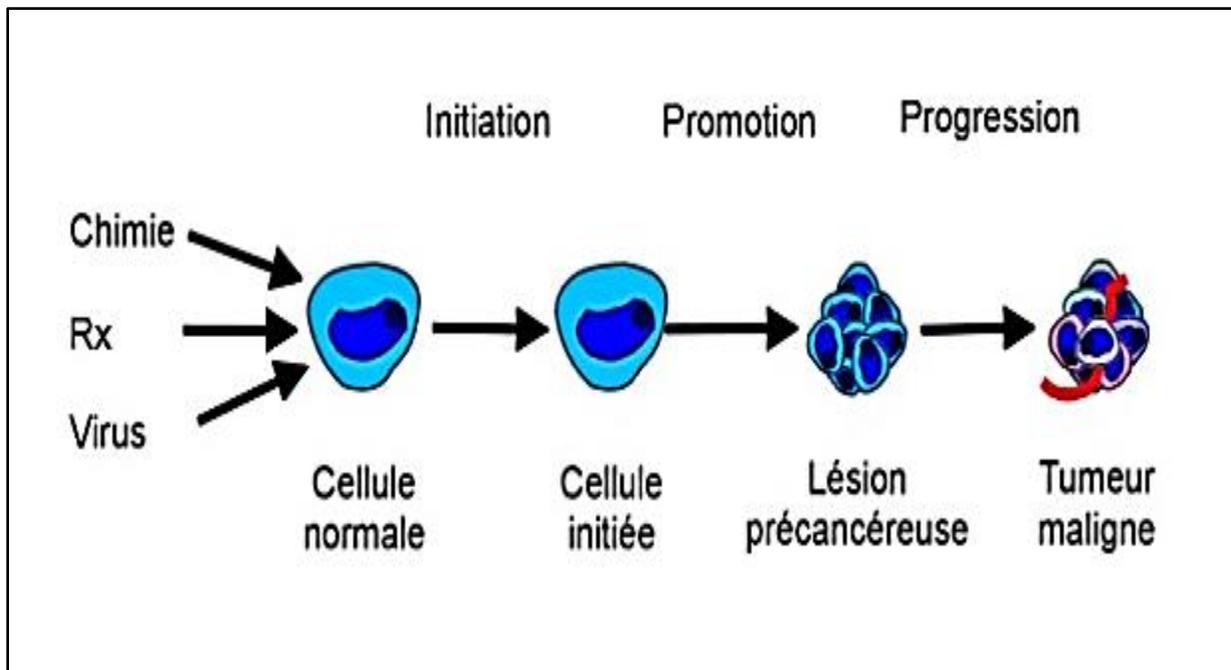
### **I.5.b. Les étapes de cancérisation :**

Différentes étapes ont été identifiées dans le développement d'un cancer :

**I.5.b.i. Phase d'initiation :** Apparition de cellules qui se transforment et qui possèdent des capacités cancéreuses.

**I.5.b.ii. Phase de promotion :** La multiplication des cellules va en augmentant parallèlement aux mutations de l'ADN du noyau.

**I.5.b.iii. Phase de progression :** Etape finale dans le développement du cancer et le néoplasie est cliniquement détectable [1], [6].



**Figure 5** : Les étapes de cancérogénèse [6].

### **I.6. Les étapes de la transformation cellulaire tumorale :**

Comme expliqué plus haut, la maladie est la conséquence d'un ou plusieurs dysfonctionnement(s) cellulaire(s) tel(s) que :

- Une perte de contrôle du cycle cellulaire
- Insensibilité à l'apoptose
- Irrégularité dans la réparation de l'ADN

Le cancer est considéré comme une pathologie multigénique (plusieurs gènes sont altérés), contrairement aux maladies monogéniques comme la mucoviscidose, certaines hémophilies et les myopathies. Cette altération peut toucher de 10 à 20 gènes de manière successive, non-aléatoire et pouvant s'étaler sur une longue période (5 à 20 ans).

Chaque type de cancer possède son propre mécanisme d'évolution de la maladie. À titre d'exemple, dans le cancer du côlon, le phénomène débute par l'inactivation du gène suppresseur de tumeur APC, la mutation de l'oncogène Ha-ras et l'inactivation du gène suppresseur de tumeur P53. Cette spécificité et cette chronologie bien précise de chaque type de cancer, montre que la diversité génétique est la base de l'hétérogénéité de la pathologie cancéreuse.

L'évolution de la maladie du cancer comporte deux étapes successives : la cancérogenèse et la tumorigènes [10].

### **I.7. Les causes du cancer :**

Les cancers sont causés par l'exposition à des virus, à des substances naturelles ou chimiques, à des rayonnements. Cela a pour effet d'induire des mutations ou des expressions inappropriées de divers gènes appelés oncogènes, impliqués dans la prolifération des cellules (→ division cellulaire), dans leur différenciation et dans la régulation de ces phénomènes.

Les oncogènes sont normalement sous le contrôle de gènes inhibiteurs, les antioncogènes, qui peuvent être perdus ou subir eux-mêmes une mutation sous l'action des agents différent et multiples, leur fonction s'en trouvant réduite. Mais ces antioncogènes peuvent manquer de façon héréditaire, ce qui explique en partie l'existence de prédispositions familiales à certains cancers. Ces formes à prédisposition familiale représentent 5 % de la totalité des cancers [3].

### **I.8. Traitements du cancer :**

Le traitement du cancer est adapté en fonction de chaque situation. En effet, chaque patient atteint d'un cancer est un cas particulier et demande une prise en charge appropriée.

Le choix d'un traitement ou d'une combinaison de traitements dépend de plusieurs facteurs dont les plus importants sont :

- Le type de cancer.
- Le degré d'extension du cancer.
- La présence d'éventuelles autres maladies.
- L'âge de la personne.
- L'état général de la personne [1].

#### **I.8.a. Objectifs du traitement :**

L'objectif du traitement peut être :

- ✓ Curatif : permet la réémission voire, dans certains cas, la guérison du malade ;
- ✓ Palliatif : adapte en vue de freiner l'évolution de la maladie afin de garantir la meilleure qualité de vie possible [7].

### **I.8.b. Types de traitement :**

La prise en charge thérapeutique des patients atteints d'un cancer est multidisciplinaire. Elle fait appel à différentes spécialités dont les plus connues sont la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Depuis quelques années, l'arsenal thérapeutique s'est enrichi de l'hormonothérapie, de l'immunothérapie et des thérapies ciblées. Le projet thérapeutique ainsi élaboré est personnalisé et peut-être modulé en fonction de l'évolution tumorale [7].

#### **I.8.b.i. La chirurgie :**

Chirurgie, soit pour enlever la tumeur locale, soit afin de poser ou de confirmer un diagnostic, une activité minimale est également définie utiliser pour le cancer du sein, le tube digestif, le système urinaire et la chirurgie du cancer thoracique, service de gynécologie, oto-rhino-laryngologie et maxillo-faciale. Le système est conçu pour garantir que tous patients, soins de qualité dans tout le pays. Ce le but de la chirurgie est d'enlever la tumeur et d'évaluer sa gravité et son étendue. Analysez immédiatement les ganglions lymphatiques près de la tumeur. La technologie les procédures chirurgicales deviennent de moins en moins invasives et de plus en plus d'interventions sont retenues seule la tumeur est retirée, ainsi que la zone touchée. Cependant, cette approche est-il ne peut exister que dans certaines régions, et parfois il n'est pas autorisé à supprimer toutes les cellules malades. Pour les petites tumeurs avec une bonne localisation, une chirurgie laparoscopique est nécessaire par exemple, vous pouvez faire de petits trous et réduire l'entraînement complications postopératoires. Une simple ablation peut être suffisante pour certains cancers, c'est comme si la peau se développait lentement. La plupart des opérations souvent suivi d'autres traitements, tels que la chimiothérapie ou la radiothérapie, dans l'ordre prévenir la survenue ou le développement de récurrences et de métastases [1].

#### **I.8.b.ii. La radiothérapie :**

Permet de détruire les cellules cancéreuses en les irradiant et en modifiant le patrimoine génétique des cellules, les empêchant ainsi de se développer. Elle peut être utilisée seule ou associée à la chirurgie et à la chimiothérapie.

La dose délivrée doit pouvoir provoquer des lésions suffisamment importantes de l'ADN des cellules cancéreuses pour qu'elles ne puissent pas les réparer. Comme la chirurgie, la radiothérapie a un inconvénient majeur qui provient de la difficulté à traiter des tumeurs localisées à des endroits difficiles d'accès sans endommager les organes qui les entourent. Elle ne se conçoit, pour être

performante et sûre, que dans un environnement technique très important. Cet équipement comprend :

- ✓ Un scanner, pour bien repérer le volume tumoral et les organes critiques,
- ✓ Un conformateur, qui permet le tracé des contours cutanés dans des plans transverses ou sagittaux,
- ✓ Un simulateur, appareil de radiodiagnostic qui permet le centrage des faisceaux ; il simule l'appareil de traitement en permettant de voir ce qui sera irradié par chaque faisceau,
- ✓ Un système informatique, pour faire la dosimétrie, c'est à dire visualiser la distribution spatiale de la dose et calculer les temps de traitement [8].

### **I.8.b.iii. Traitements médicamenteux :**

#### **I.8.b.iii.1. La chimiothérapie toxique :**

La chimiothérapie est un traitement général dont l'objectif est de réduire les récurrences, elle peut être systémique ou régionale. Les cancers du stade 0 et I ne sont pas concernés par la chimiothérapie. Dans le cas des cancers avancés au stade II, III et IV, la chimiothérapie est administrée après la chirurgie, elle peut être utilisée dans plusieurs situations :

- En préopératoire afin de réduire le volume d'une tumeur et faciliter l'exérèse : traitement Néoadjuvant ;
- En postopératoire, afin de compléter le geste chirurgical et éviter les récurrences : traitement adjuvant ;
- En association à la radiothérapie, afin d'augmenter la sensibilité de la tumeur à cette dernière : traitement chimio radio concomitant ;
- En situation de cancers disséminés ou métastatiques, ou ils sont utilisés en différentes lignées
  - Première lignée : traitement utilisable en première intention ;
  - Deuxième lignée : traitement utilisable en cas d'échec ou d'intolérance à la première lignée de traitement ;
  - Troisième lignée : traitement utilisable en cas d'échec ou d'intolérance à la deuxième lignée de traitement ; [7].

### **I.8.b.iii.2. Hormonothérapie :**

L'hormonothérapie est un traitement qui consiste à bloquer l'action ou la production d'hormones naturelles afin d'empêcher le développement des cellules cancéreuses. Contrairement à la chimiothérapie ou à la radiothérapie, qui cherchent à tuer rapidement les cellules cancéreuses, l'hormonothérapie vise à entraîner leur mort à plus long terme en créant un milieu hormonal qui leur est défavorable.

Le développement de certaines cellules cancéreuses est stimulé par des hormones qui se fixent sur des récepteurs à la surface de ces cellules. Ces récepteurs sont alors activés, déclenchant des réactions à l'intérieur de la cellule, comme par exemple une division cellulaire. On peut comparer l'hormone à une clef qui permet d'ouvrir une serrure (le récepteur hormonal) [6].

### **I.8.b.iii.3. Thérapies ciblées :**

C'est les thérapies dirigées contre des cibles moléculaires présentes sur la cellule cancéreuse et jouent un rôle dans sa transformation et dans sa prolifération néoplasique. Les cibles moléculaires concernées peuvent être responsables de la transformation néoplasique ou des anomalies moléculaires contribuant à la progression tumorale [7].

### **I.8.b.iii.4. Immunothérapie :**

Notre système immunitaire est entraîné à lutter contre les intrus venant de l'extérieur (bactéries, virus...), mais aussi contre les cellules cancéreuses. Pour ce faire, il doit cependant réussir à les distinguer des cellules saines.

Le terme générique « immunothérapie » englobe tous les traitements qui encouragent les défenses immunitaires du patient à attaquer le cancer. Contrairement à la chimiothérapie et à la radiothérapie, l'immunothérapie ne cible donc pas directement les cellules cancéreuses mais collabore avec le système immunitaire afin de les éliminer.

Il existe plusieurs formes d'immunothérapie et les chercheurs continuent à trouver de nouveaux moyens de renforcer le système immunitaire. La liste ci-après est donc provisoire et reprend les principaux traitements disponibles à l'heure actuelle afin de favoriser une meilleure compréhension des différentes formes d'immunothérapie. D'autres viendront certainement s'y ajouter à l'avenir.

- ❖ Les anticorps monoclonaux.

- ❖ Les inhibiteurs de check point immunitaire.
- ❖ Les vaccins anticancéreux thérapeutiques.
- ❖ La thérapie TIL.
- ❖ La thérapie cellulaire CAR-T.
- ❖ Les cytokines [6].

## **II. Myélome multiple**

### **II.1. Généralités:**

Le myélome multiple (MM) ou maladie de Kahler est une hémopathie maligne caractérisée par une prolifération plasmocytaire monoclonale envahissant la moelle osseuse hématopoïétique, et par une sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale ou d'un fragment d'immunoglobuline monoclonale retrouvée dans le sang et/ou les urines, du ce fait ; il se caractérise à l'électrophorèse des protéines sériques par la présence d'un pic étroit migrant le plus souvent dans la zone des gammaglobulines pour les myélomes sécrétants, et par une hypogammaglobulinémie associée à une protéinurie de Bence-Jones pour les myélomes à chaînes légères [11].

C'est la deuxième hémopathie en termes de prévalence après les lymphomes.

Age moyen de survenue  $\geq 60$  (rare avant 40ans), touche surtout les hommes, dont la fréquence :

- 1 à 2 % de l'ensemble des Kc
- 10 à 12 % des hémopathies malignes
- 2000 à 2500 nouveaux cas /an en France

C'est une maladie accumulative >>> proliférative, d'origine toujours inconnue.

Reste incurable à ce jour (médiane de survie =3ans), actuellement ; des avancées considérables dans le domaine thérapeutique : symptomatique et antinéoplasique.

C'est une maladie hétérogène avec une grande disparité pronostique conditionnant la survie, cela dépend de plusieurs paramètres tels : stade, l'âge, l'atteinte rénale et d'autres [11].

## II.2. Histoire de myélome multiple :

Depuis la découverte par le Dr Henry Bence Jones d'une protéine anormale dans les urines d'un patient présentant un myélome multiple, de très nombreuses étapes ont été successivement franchies dans la connaissance de cette maladie [12].

La découverte du Dr Bence Jones fut de remarquer un sédiment urinaire capable de dissolution à chaud et de re-précipitation à froid [12].

Ci-dessous les étapes qui ont marqué l'histoire de cette maladie, que ce soit sur le plan de son diagnostic ou de son traitement (Tableau 1) :

**Tableau 1** : les étapes de l'histoire de MM :

|             |  |
|-------------|--|
| <b>1844</b> | Première description du MM nommé « mollities and fragilitasossium »  |
| <b>1848</b> | Premier diagnostic de MM poeé par Macintyre  |
| <b>1850</b> | Macintyre publie le détail de ses observations de myélome de Bence Jones   |
| <b>1873</b> | Rustizky introduisit le terme « myélome multiple » pour désigner la présence de multiples lésions plasmocytaires dans les os |
| <b>1889</b> | Otto Kahler publia une description clinique détaillée du MM et la nomma « maladie de Kahler »                                |
| <b>1890</b> | Ramony Cajal rapporta la première description microscopique des plasmocytes.   |
| <b>1900</b> | Wright a montré que les cellules myélomateuses sont des plasmocytes.   |
| <b>1930</b> | Les aspirations médullaires sont devenues plus courantes et le diagnostic du MM est devenu plus facile.                      |

|                  |   |
|------------------|---|
| <b>1953</b>      | L'immuno-électrophorèse et l'immunofixation ont été introduites pour l'identification exacte des protéines monoclonales.  |
| <b>1956</b>      | Korngold et Lipari ont montré que les protéines de Bence Jones (BJ) avaient un lien avec les gamma-globulines sériques normales et les protéines sériques anormales. En leur honneur, les protéines de Bence Jones ont été appelées kappa ( $\kappa$ ) et lambda ( $\lambda$ ou L). |
| <b>1958</b>      | Découverte de la Sarcolysine qui permettra la synthèse du Melphalan (Alkeran®)  |
| <b>1962</b>      | Premier cas de traitement efficace avec le Melphalan  |
| <b>1969</b>      | Alexanian rapporta que la combinaison Melphalan-Prednisone (MP) donnait de meilleurs résultats que le Melphalan seul.   |
| <b>1975</b>      | Stadind de Durie et Salmon  |
| <b>1976-1982</b> | Plusieurs protocoles de poly chimiothérapie ont été testés en vue d'améliorer la prise en charge thérapeutique  |
| <b>1983</b>      | Première utilisation de la $\beta$ 2-microglobuline comme marqueur pronostique (Bataille, Child et Durie).  |
| <b>1984</b>      | Barlogie et Alexanian introduisirent le protocole VAD.  |
| <b>1984-1986</b> | Premières utilisations de la greffe allogénique dans le MM par Mc Elwain.   |
| <b>1986-1996</b> | Barlogie a démontré l'efficacité des traitements intensifs avec greffe de moelle osseuse (MO) ou de cellules souches périphériques (CSP)  |
| <b>1998</b>      | Rôle pronostique défavorable de la délétion du chromosome 13.   |

|                  |  |
|------------------|--|
| <b>1999</b>      | Efficacité de la Thalidomide chez les patients présentant une maladie résistante ou réfractaire.   |
| <b>2000</b>      | Essais cliniques de thérapies incluant les analogues de la thalidomide, les agents anti-angiogéniques tels que les inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase du VEGF, des molécules bloquant l'adhésion cellulaire et des inhibiteurs du protéasome.   |
| <b>2001</b>      | De nouvelles classifications pronostiques ont été proposées :<br>- Le SWOG propose un système en 4 groupes, basé sur les taux sériques de la $\beta$ 2- microglobuline et de l'albumine.<br>- L'IFM propose un système, en 3 groupes, basé sur les taux sériques de la $\beta$ 2- microglobuline et la présence ou non d'anomalies du chromosome 13 détectée par FISH (hybridation in situ en fluorescence). |
| <b>2003</b>      | L'IFM a publié la supériorité de 2 autogreffes par rapport à une seule.  |
| <b>2004</b>      | Le groupe ECOG a montré la supériorité du protocole Thalidomide-Dexaméthasone vis-à-vis de la Dexaméthasone seule.   |
| <b>2005</b>      | Présentation d'une nouvelle classification pronostique, l'ISS.<br>- Supériorité de la combinaison Lénalidomide-Dexaméthasone par rapport à la Dexaméthasone seule pour le MM en rechute.   |
| <b>2006-2015</b> | De nouveaux agents sont en cours de développement.   |

### II.3. Circonstances de découverte :

Le myélome multiple peut être évoqué devant des symptômes, ou être découvert lors d'examen biologiques ou radiologiques.

## Symptômes évocateurs de myélome multiple :

Le plus souvent, le myélome multiple symptomatique est évoqué devant des douleurs osseuses ou rachidiennes typiquement persistantes non calmées par le repos ni par les antalgiques de palier I, II, ou III.

Parfois, le myélome multiple est découvert dans le cadre d'une urgence thérapeutique, notamment en cas de :

- Fractures pathologiques, en particulier vertébrale ;
- Signes neurologiques compressifs médullaires ou radiculaires ;
- Signes d'insuffisance rénale aiguë ;
- Signes d'hypercalcémie.

Plus rarement, le myélome multiple est évoqué devant les signes cliniques suivants :

- Infection(s) bactérienne(s) récurrente(s) ou persistante(s) ;
- Signes suggérant une amylose (syndrome du canal carpien, signes de neuropathie périphérique, syndrome néphrotique, signes d'insuffisance cardiaque, troubles du rythme, signes d'hypotension orthostatique, etc.).

Exceptionnellement, le myélome multiple symptomatique est révélé par un syndrome d'hyperviscosité sanguine (principalement un déficit neurosensoriel non expliqué) [13].

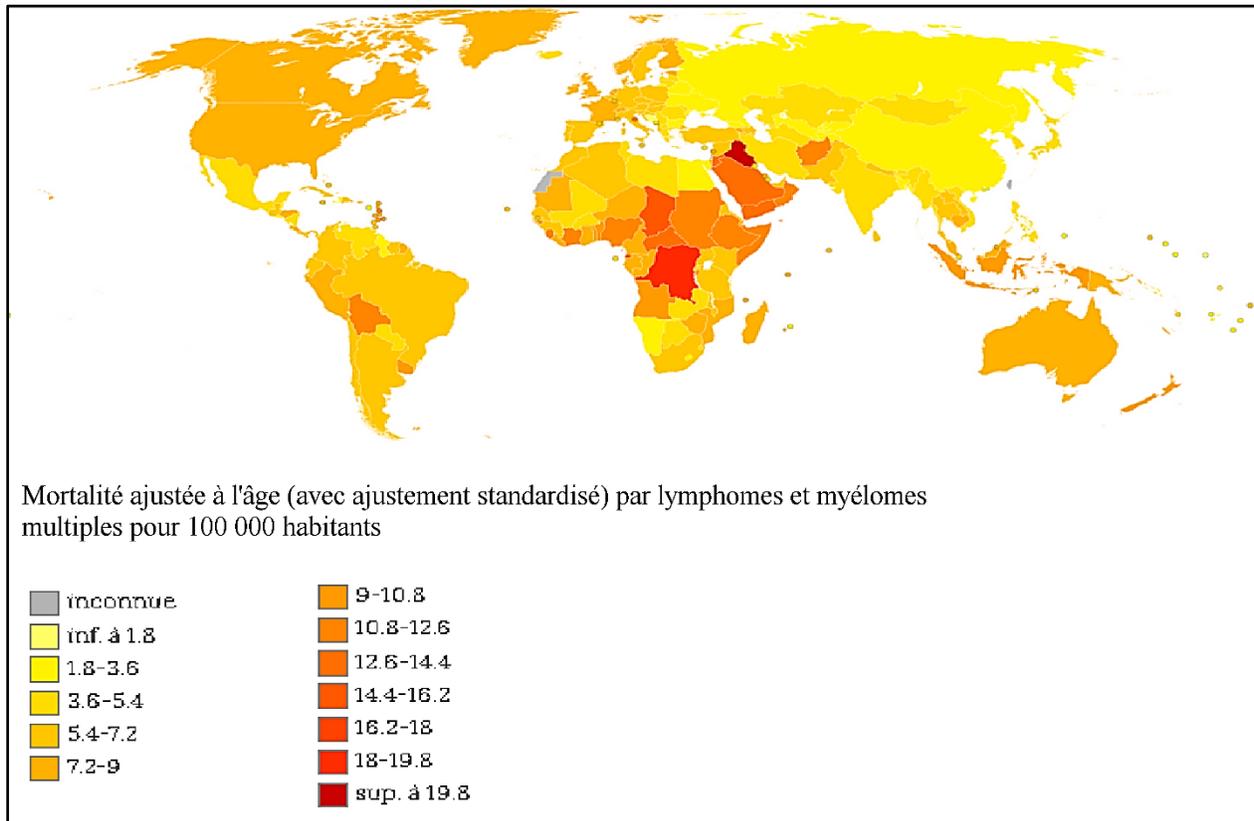
## II.4. Epidémiologie :

Le myélome est la deuxième hémopathie maligne en termes de fréquence [11] et la forme la plus commune de néoplasme osseux et le cancer du sang le plus répandu, après le lymphome non hodgkinien [14]. Il représente environ 1% de tous les cancers mondiaux et pour environ 2% de morts liées au cancer [15].

On recense environ 3 à 4 cas pour 100 000 habitants par an [11]. La survenue chez des adolescents et de jeunes adultes reste exceptionnelle [12], ce cancer n'existe pas chez l'enfant [14]. Il est légèrement plus fréquent chez l'homme que chez la femme, le ratio était de 3/2 [16].

L'incidence augmente rapidement avec l'âge et l'âge moyen de diagnostic est de 65 ans [12]. La médiane de survie est actuellement de 36 à 48 mois [14].

L'incidence du myélome varie d'un pays à l'autre, les Afro-américains semblent être au plus gros risque pour la maladie, alors que les Asiatiques sont au plus à faible risque [15]. Il est 2 à 3 fois plus fréquent chez les Noirs que chez les Blancs [11]. Une étude a expliqué que l'incidence du myélome dans les Afro-américains est 9,5 selon 100.000 personnes tandis que parmi les Américains Caucasiens, les tarifs sont 4,1 selon 100.000 personnes. Dans la population d'Afro-américains, le myélome est parmi les dix cancers principaux pour entraîner la mort [15].



**Figure 6 :** Mortalité ajustée à l'âge par lymphomes et myélomes multiples pour 100 000 habitants.

## II.5. Etiologie:

Au milieu du 19<sup>e</sup> siècle, le MM a été décrit pour la première fois par Dalrymple, Bence-Jones et Mac Intyren, où c'est la période qui a coïncidé avec le début de la révolution industrielle, l'apparition des colorants synthétiques et des produits chimiques organiques, d'où l'idée que les solvants organiques, les rayons ionisants, les herbicides et des insecticides pourraient en être la cause [14].

En fait, la cause n'est pas due à une seule chose [14] et comme c'est le cas pour la plupart des maladies malignes, la cancérogenèse du MM est multifactorielle [11] ; mais certains facteurs augmentent le risque de développer cette maladie [14] :

- Les facteurs environnementaux comme une exposition à des toxiques (pesticides, herbicides, engrais, colorants, pétrole et dérivés du pétrole) ou à des radiations ionisantes constituent des facteurs de risque [11].
- Age : plus de 60 ans, le MM est, avec la leucémie lymphoïde chronique, les cancers non épithéliaux dont l'incidence augmente avec l'âge [14].
- Un lien avec l'herpès virus HHV-8 est possible. Il est objectivé très souvent dans les cellules dendritiques des myélomes [11].
- Un lien avec l'infection à Helicobacter pylori ou au virus de l'hépatite C [14].
- Il existe de rares cas familiaux et conjugaux avec une fréquence élevée chez les Afro-Américains ; faisant discuter des facteurs génétiques [11].

Toutes ces données sur les facteurs de risque sont controversées. Seules les radiations ionisantes, liées à des expositions accidentelles, sont reconnues comme facteur de risque avéré [14].

## Références bibliographiques :

[1] Makhloufi, k. ; Lazreg, I., Conception in silico de nouveaux composés anticancéreux. Thèse de master Université Mohamed Khider de Biskra, 2019.

[2] Ingrid, U. N., Analyse computationnelle des protéines kinases surexprimées dans le cancer du sein « Triple-négatif ». Thèse de maitre ès sciences (M.Sc.), Université de Sherbrooke Sherbrooke Québec Canada, 2014.

[3] Ghadhab, E.-H. T. ; Soufi, M., Application du docking moléculaire par surflex pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2). Thèse de master Université des Frères Mentouri Constantine1, 2020.

[4] Alberts, B. ; Johnson, A., Biologie moléculaire de la cellule, 4e édition, Flammarion - © Réseau Canopé 2015.

[5] Leroux, V., Modélisation d'inhibiteurs du domaine SH2 de la protéine Grb2 par dynamique moléculaire, docking et criblage virtuel. Thèse de docteur Université Henri Poincaré – Nancy I, 2006.

[6] Sehil M. ; Benabdallah, A., Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la tyrosine kinase EGFR. Thèse de master Université Mohamed Khider de Biskra, 2021.

[7] Bouksil, D. ; Tachour, S., Étude des effets secondaires liés au Capéguard® « Capécitabine » au niveau du service d'oncologie, unité de Belloua, CHU de Tizi-Ouzou. Thèse de docteur Université de Mouloud Mammeri, 2019.

[8] Benhamza, S. ; Bassi, S., Identification de nouveaux inhibiteurs de protéine kinase B par criblage virtuel. Thèse de master Université Mohamed Khider de Biskra, 2021.

[9] <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/cancer/11745>.

[10] Asses, Y., Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur c-Me. Thèse de docteur Université Henri Poincaré – Nancy I, 2011.

[11] Laidouni, O., Myélome multiple (MM) : synthèse actualisée de la littérature et étude des cas de mm à chaînes légères (14 observations au service d'hématologie clinique de l'hmmi –meknès). Thèse de docteur Université Mohammed 5 de Rabat, 2020.

[12] El Houzi, A., Myélome multiple à propos de 40 cas. Thèse de docteur Université Cadi Ayyad, 2016.

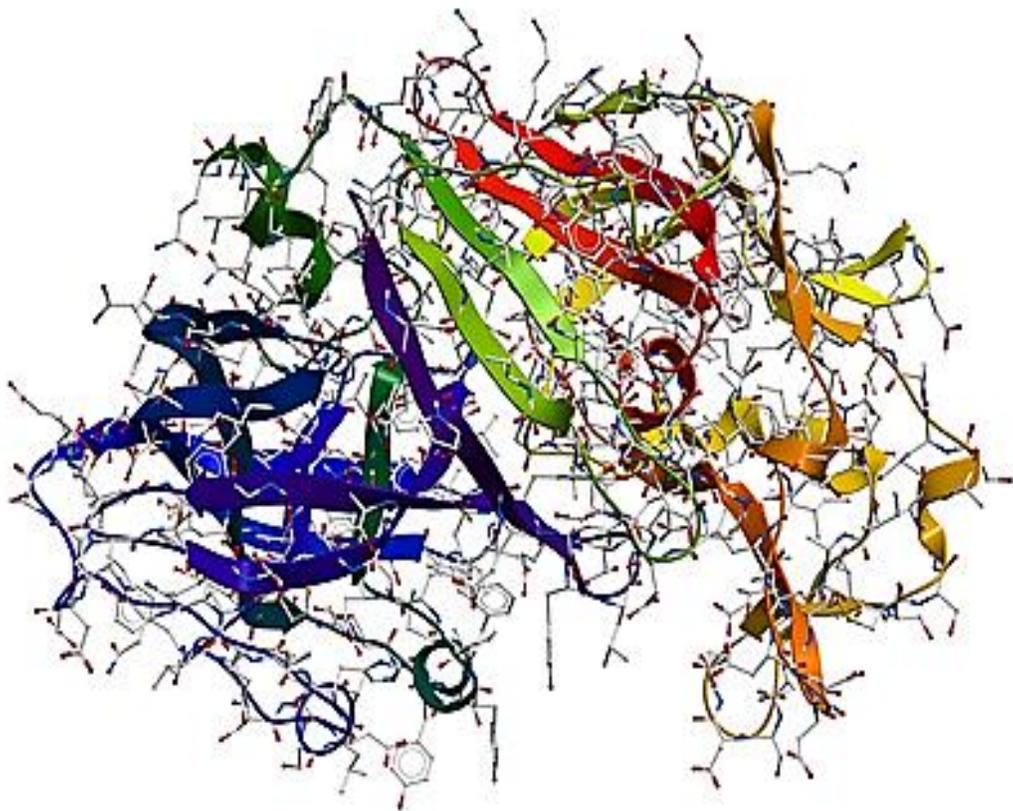
[13] HAS - Service des maladies chroniques et dispositifs d'accompagnement des malades INCa, Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique Myélome multiple. Guide médecin élaboré. Département des recommandations pour les professionnels de santé, 2010.

[14] Moussaoui, T. ; Khellaf, O., Myélome multiple : Aspects immunologiques, biochimiques et anatomo-pathologiques d'une cohorte de 91 patients. Thèse de docteur Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 2016.

[15] El Khalifa, Y., Myelome multiple experience du service medecine interne HMA Hôpital militaire avicenne Marrakech. Thèse de docteur Université Cadi Ayyad, 2017.

[16] Pottier, V., Étude du myélome multiple au travers de l'imagerie médicale. Thèse de docteur Université de Bordeaux U.F.R des sciences pharmaceutiques, 2014.

# Partie (B) : Généralités sur l'enzyme et les kinases PIM-1.

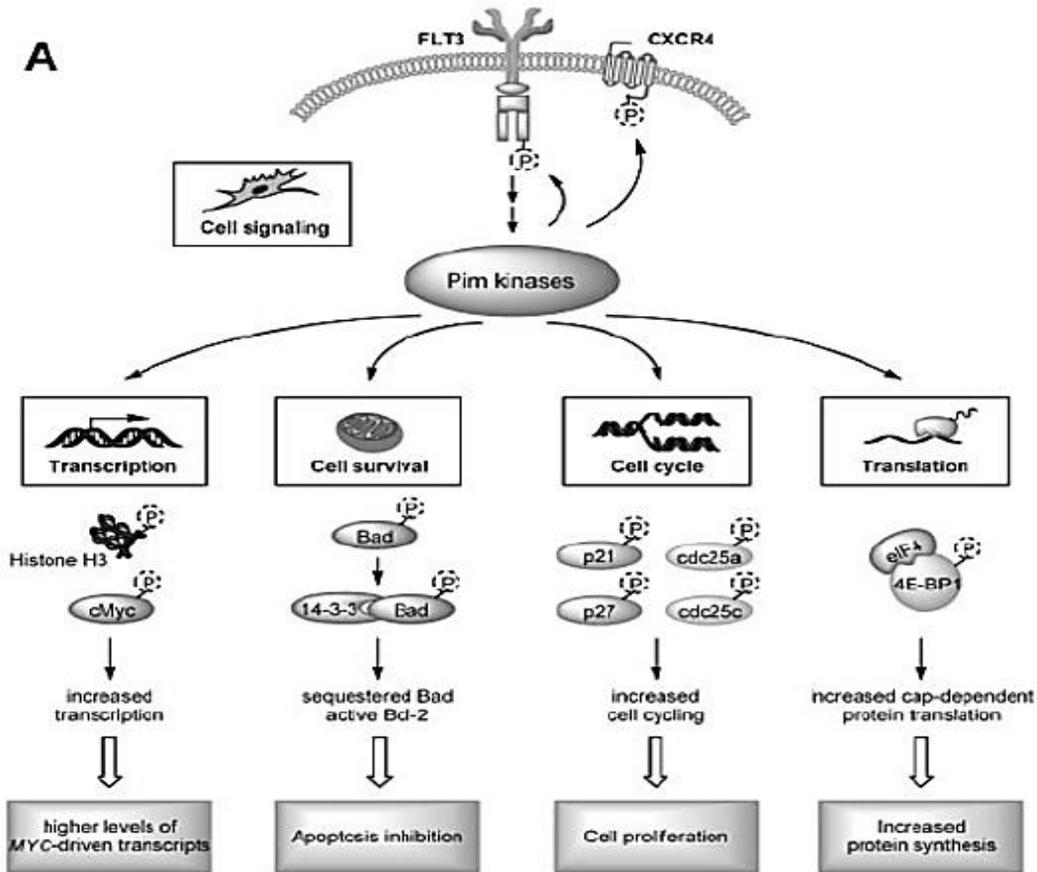


## **I. Introduction :**

Les enzymes sont les acteurs principaux du drame de la vie. Sans ces machines moléculaires, l'information génétique stockée dans l'ADN est sans valeur. Avec l'attention croissante portée aux domaines en vogue tels que la biologie moléculaire, le génie génétique et la biotechnologie [1].

Les enzymes sont des macromolécules géantes qui catalysent les réactions biochimiques. Elles sont remarquables à bien des égards. Leurs structures tridimensionnelles sont très complexes, mais elles sont formées par le repliement spontané d'une chaîne polypeptidique linéaire. Leurs propriétés catalytiques sont bien plus impressionnantes que celles des catalyseurs synthétiques qui fonctionnent dans des conditions plus extrêmes. Chaque enzyme catalyse une seule réaction chimique sur un substrat chimique particulier avec une énantiosélectivité et une énantiospécificité très élevées, à des vitesses proches de la "perfection catalytique". Les cellules vivantes sont capables de réaliser un énorme répertoire de réactions chimiques catalysées par des enzymes, dont certaines n'ont que peu ou pas de précédents en chimie organique [2].

Les protéines de la famille PIM (site d'intégration du provirus du virus de la leucémie murine de Moloney) sont des sérine/thréonine kinases hautement conservées qui ont été impliquées dans la progression du cancer et le développement de la résistance aux agents chimiothérapeutiques. Trois PIM kinases (PIM-1, -2 et -3) ont été identifiées, chacune présentant des isoformes variantes de la protéine exprimée en raison de sites de départ alternatifs. Chez l'homme, les gènes PIM-1, PIM-2 et PIM-3 sont situés sur les chromosomes 6p21, Xp11.23 et 22q13, respectivement. Au niveau des acides aminés, il existe une homologie substantielle entre PIM-1 et PIM-2 (53%) et PIM-3 (69%). Les kinases PIM ont des fonctions qui se chevauchent et se compensent mutuellement, et leurs nombreuses cibles comprennent des régulateurs de la transcription, de la traduction, du cycle cellulaire, de la survie et de la résistance aux médicaments (Figure 1) [3].



**Figure 1 :** PIM kinases dans le cancer. Voies des PIM kinases.

En ce qui concerne la biologie du cancer, l'augmentation des niveaux de protéines PIM kinases a été fortement impliquée dans la survie cellulaire et la tumorigenèse. Les kinases PIM sont surexprimées à la fois dans les tumeurs solides telles que le cancer du côlon, le cancer de la prostate et les hémopathies malignes, notamment les lymphomes, la leucémie lymphoïde chronique (LLC) et les leucémies aiguës. Plus précisément, dans la LAM, la surexpression de PIM peut être due à la surexpression de HOXA9, qui peuvent agir comme facteurs de transcription pour Pim. Ces kinases oncogènes semblent jouer un rôle essentiel dans la leucémogénèse et la résistance à la chimiothérapie et à la radiothérapie [3].

Les protéines kinases humaines ou kinome, sont des enzymes qui transfèrent un groupe phosphate à un substrat (qui peut être une protéine), tandis que les phosphatases éliminent un groupe phosphate de la protéine. Ensemble, ces deux processus enzymatiques modulent de nombreuses activités de protéines dans une cellule, souvent en réponse à un stimulus externe [4].

# THE Human Kinome

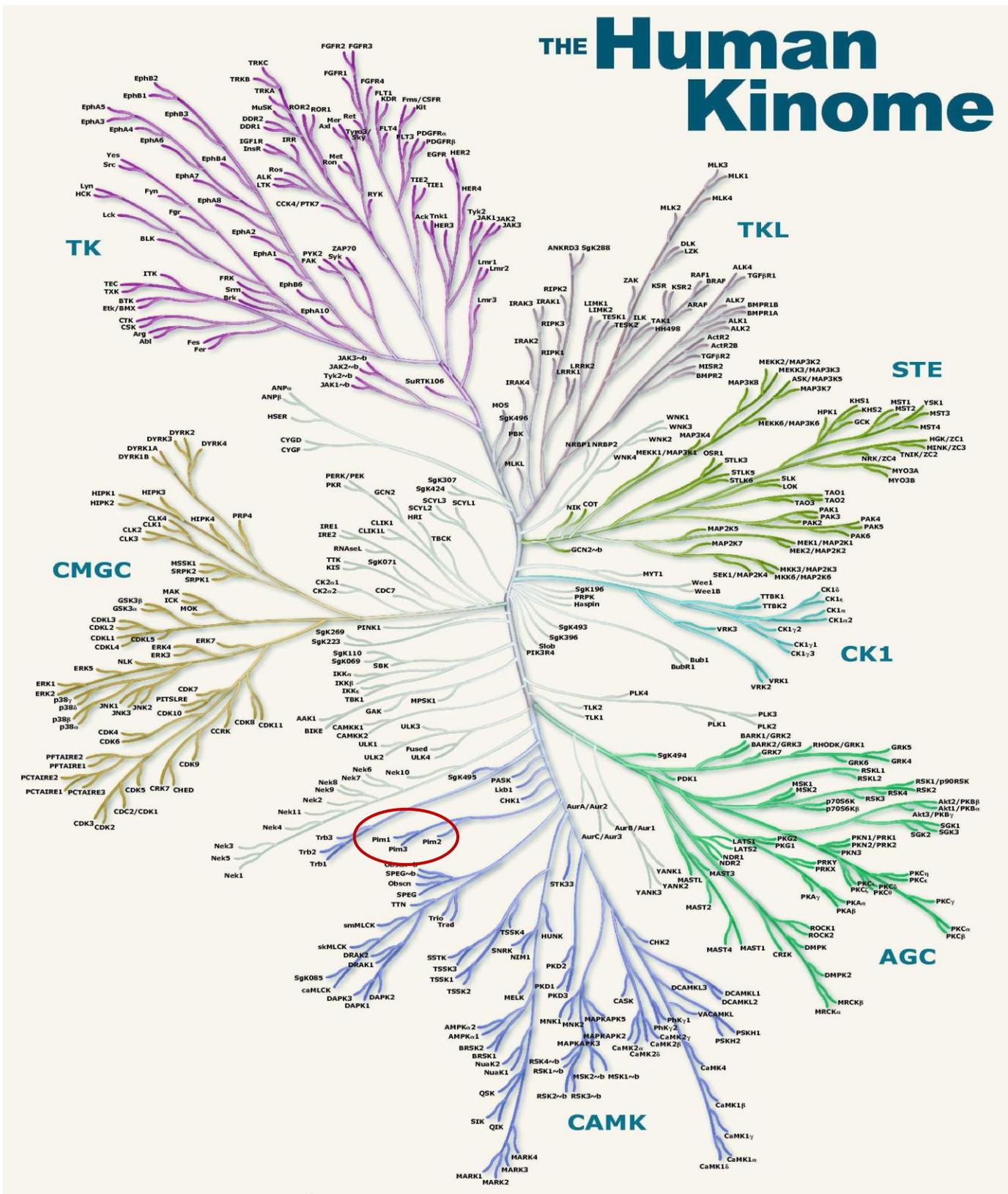


Figure 2 : Le kinome humain

## II. L'enzyme :

### II.1. Le Site Actif :

L'activité des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif qui a la forme d'une cavité ou d'un sillon.

Le site actif d'une enzyme est la région privilégiée de l'enzyme qui interagit avec le substrat. Les acides aminés du site actif peuvent être divisés en deux groupes :

- ✚ Ceux qui interviennent à la reconnaissance spatiale du substrat, en formant avec lui des liaisons non-covalentes (site de fixation).
- ✚ Ceux qui participent à la transformation chimique du substrat en produit (site catalytique).

Le placement des fragments (atomes) dans le site actif est basé sur le principe de complémentarité stérique et électronique entre ligand et récepteur.

Les enzymes jouent le rôle central dans la régulation des processus biologiques, elles ont souvent besoin de cofacteurs qui sont indispensables pour le déroulement de la réaction [5].

### II.2. Analyses d'inhibition d'enzymes :

Les enzymes sont des catalyseurs protéiques délicats dotés de subtiles flexibilités conformationnelles. Cela les rend vulnérables, et un certain nombre de conditions environnementales et/ou de ligands peuvent entraîner un déclin de l'activité catalytique nette. Une enzyme peut être tuée de manière irréversible (inactivation par une température élevée, des pH extrêmes, un solvant non aqueux, etc.) ou inhibée par des ligands qui se lient à elle. Les inhibiteurs sont généralement des ligands de faible poids moléculaire qui entraînent une diminution de la vitesse de la réaction catalysée par l'enzyme. Pour qu'une molécule agisse comme un inhibiteur, elle doit interagir physiquement avec l'enzyme. Les interactions avec l'enzyme qui n'affectent pas son activité catalytique (qui sont cinétiquement silencieuses) n'ont aucune conséquence inhibitrice. Par exemple, une molécule peut se lier à l'enzyme sans modifier aucune de ses propriétés cinétiques. Bien que de tels ligands puissent servir d'appâts potentiels pour la purification des enzymes, ils sont inutiles pour l'étude des mécanismes cinétiques [1].

L'étude de l'inhibition des enzymes permet de mieux comprendre leurs mécanismes de réaction. L'utilité d'une telle analyse cinétique des inhibiteurs avec une description détaillée est couverte dans les sections suivantes. Nous pouvons classer les inhibiteurs en fonction de leur nature

chimique et des caractéristiques uniques de l'inhibition qu'ils présentent. La nature de l'inhibition d'une enzyme peut être réversible ou irréversible. Certaines des formes les plus courantes d'inhibition et la terminologie sont indiquées dans le tableau ci-dessous (Tableau 1) [1].

**Tableau 1 :** Types d'inhibiteurs couramment rencontrés.

| Catégorie d'inhibition enzymatique |   | Nomenclature                   |
|------------------------------------|---|--------------------------------|
| <b>Irréversible</b>                | <b>Site actif dirigé</b>                            | <b>Étiquettes d'affinité</b>   |
|                                    |   | <b>Substrats de suicide</b>    |
|                                    |   | <b>Reliure serrée (solide)</b> |
| <b>Réversible</b>                  | <b>Site de liaison (de fixation)</b>                | <b>Isostérique</b>             |
|                                    |   | <b>Allostérique</b>            |
|                                    | <b>Ampleur de l'inhibition (degré d'inhibition)</b> | <b>Partiel</b>                 |
|                                    |   | <b>Complète</b>                |
|                                    | <b>Types de ligand</b>                              | <b>Produit</b>                 |
|                                    |   | <b>Substrat</b>                |
|                                    |   | <b>Impasse</b>                 |
|                                    | <b>Caractéristiques cinétiques</b>                  | <b>Compétitif</b>              |
|                                    |   | <b>Incompétitif</b>            |
|                                    |   | <b>Non compétitif</b>          |

### **II.2.a. Inhibition enzymatique irréversible :**

Les inhibiteurs irréversibles lient l'enzyme de manière covalente et l'inactivent de façon permanente.

## II.2.b. Inhibition enzymatique réversible :

L'activité enzymatique peut être retrouvée en enlevant l'inhibiteur

Les inhibiteurs réversibles sont classés en :

- ✚ Inhibiteur compétitif.
  - ✚ Inhibiteur non compétitif.
  - ✚ Inhibiteur incompétitif.
- **Inhibiteur compétitif** : (fixation exclusive) L'inhibiteur ressemble au substrat et entre en compétition avec lui pour s'introduire dans le site actif.
    - Type d'inhibition rencontrée le plus fréquemment ;
    - L'inhibiteur est très similaire au Substrat (i.e. analogue structurel)
    - L'inhibiteur et le substrat sont en compétition pour le même site de liaison sur l'enzyme : le site actif (Figure 3) [5].

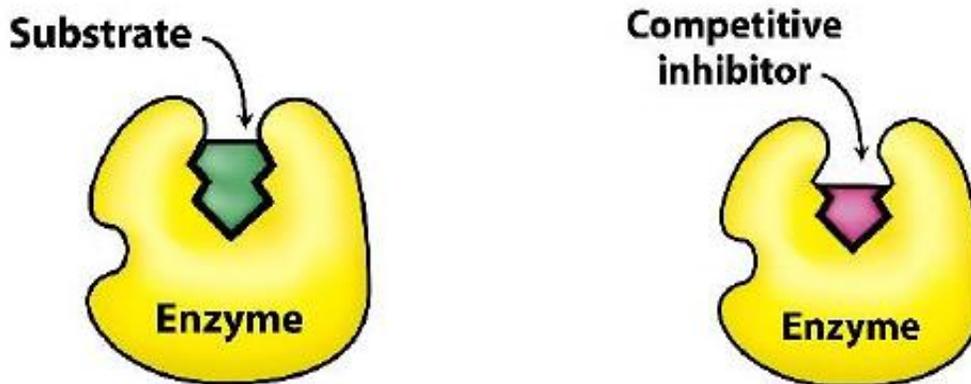
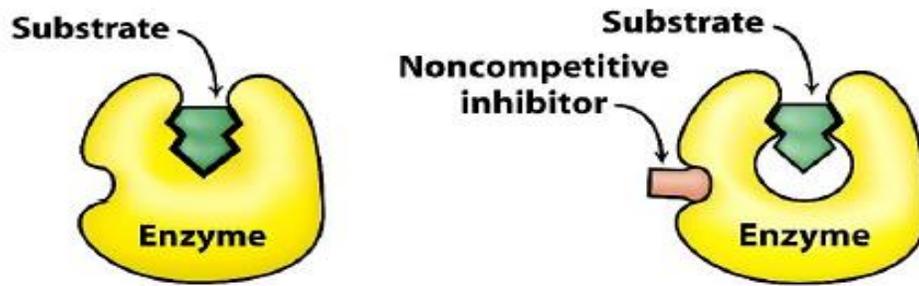


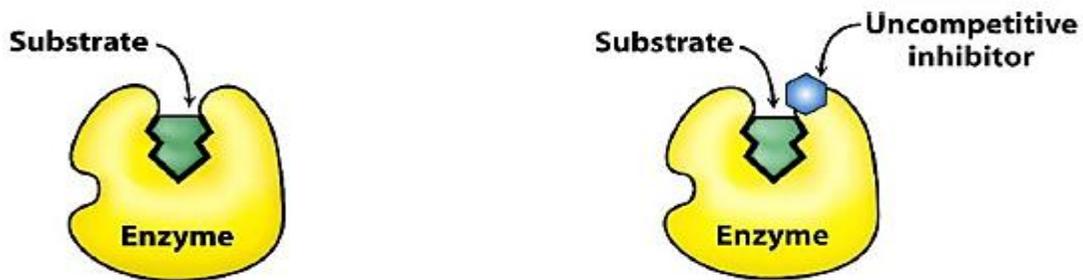
Figure 3 : Inhibiteur compétitif

- **Inhibiteur non-compétitive** : (fixation non exclusive) peut se fixer sur l'enzyme [E] et sur le complexe Enzyme-Substrat [ES] (mais n'est pas en compétition avec le substrat [S] pour sa fixation à l'enzyme) il ne peut être déplacé par augmentation de la concentration du substrat [S].
  - L'inhibiteur (I) et le substrat (S) lient des sites différents sur l'enzyme (E) ;
  - La liaison de l'inhibiteur (I) sur l'enzyme E n'affecte pas la liaison de S sur E (et vice versa) ; (Figure 4) [5].



**Figure 4 :** Inhibiteur non-compétitive.

- **Inhibiteur incompétitif :** Un inhibiteur incompétitif ne se fixe que sur le complexe ES (le site de fixation de I est induit par celle de S).
  - I peut seulement lier le complexe Enzyme-substrat (ES), pas l'enzyme libre (Figure 5) [5].



**Figure 5 :** Inhibiteur incompétitif.

### II.3. Les effecteurs :

Les ligands qui peuvent modifier la vitesse de la réaction sans être des cofacteurs indispensables, nous les appellerons effecteurs. Les effecteurs peuvent être des molécules ou des atomes quelconques, minéraux ou organiques. Ceux des effecteurs qui accélèrent la réaction sont les activateurs et ceux qui la ralentissent sont les inhibiteurs.

La modulation (inhibition ou activation) de l'activité enzymatique est un mode de régulation primordial de soies métaboliques dans la cellule, d'autant que les inhibiteurs naturels sont multiples : antibiotiques, toxines, drogues, poisons [5].

## **II.4. Mécanismes des réactions enzymatiques et points clés de**

### **l'apprentissage :**

Les enzymes catalysent les réactions biochimiques en se liant d'abord aux molécules de substrat, puis en les transformant chimiquement en divers états intermédiaires sur le chemin vers l'état de produit final.

- Chaque forme intermédiaire du substrat le long de la voie de réaction est accompagnée d'un état de conformation unique de l'enzyme.
- Chacun de ces états conformationnels individuels représente une opportunité unique pour des interactions de haute affinité avec des molécules médicamenteuses.

La fonction des enzymes est d'accélérer la vitesse de réaction d'espèces chimiques spécifiques. La catalyse enzymatique peut être comprise en considérant la voie de réaction, ou cycle catalytique, en termes de série séquentielle de complexes enzyme-ligand spécifiques, la formation du complexe de l'état de transition enzyme-substrat étant d'une importance capitale pour la vitesse et la fidélité du réactif qui caractérisent la catalyse enzymatique [6].

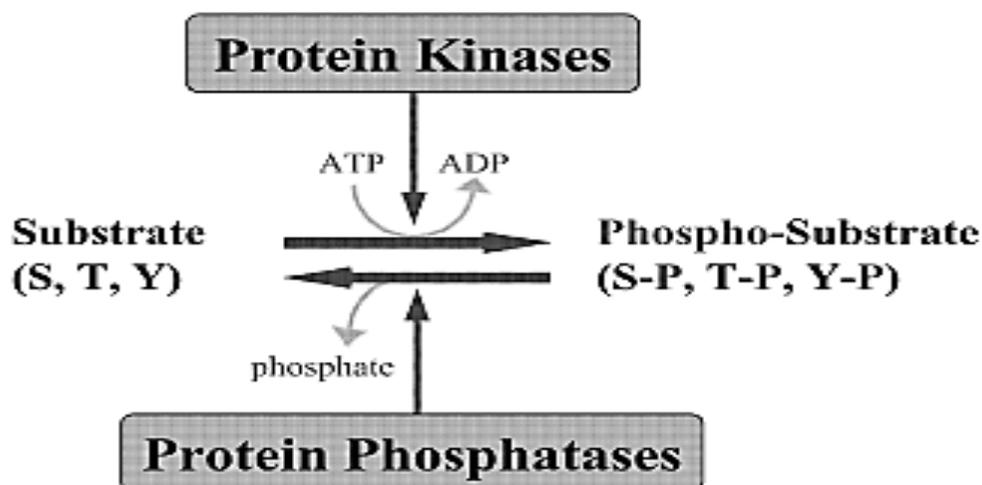
## **II.5. L'activité enzymatique :**

L'activité enzymatique est très influencée par son environnement (pH, température) ou par la présence d'autres composés. Chaque enzyme possède un pH et une température optimale à sa fonction catalytique. Les composés qui influencent la vitesse de réaction d'une réaction enzymatique sont appelés modulateurs. La plupart du temps, l'effet observé est une réduction de la vitesse de réaction qu'on définit comme inhibition. Dans de rare cas, la réaction enzymatique est accélérée et ce processus est appelé activation. Les composés sont alors définis comme des inhibiteurs ou des activateurs [7].

## **III. Protéines kinases et phosphatases :**

Environ 30 % des protéines humaines contiennent un phosphate lié de manière covalente. La phosphorylation des protéines est considérée comme l'un des principaux mécanismes post-traductionnels utilisés par les cellules pour ajuster finement leurs voies métaboliques et

réglementaires. Les protéines kinases catalysent la phosphorylation des résidus sérine, thréonine et tyrosine des protéines, en utilisant l'ATP ou le guanosine triphosphate (GTP) comme donneur de phosphate, tandis que les protéines phosphatases sont responsables de la déphosphorylation, la réaction inverse (Figure : 6). Avec l'achèvement du séquençage de plusieurs génomes importants, nous commençons à avoir une meilleure vue de l'ensemble des kinases et des phosphatases nécessaires dans un organisme. Il y a environ 518+ kinases chez l'homme. Les protéines kinases sont classées en fonction de leur séquence primaire, des acides aminés qu'elles ciblent (tyrosine vs sérine/thréonine) et de la nature de leur activateur. Il existe environ 180 phosphatases dans le génome humain. Les protéines phosphatases sont classées selon l'acide aminé qu'elles déphosphorylent (tyrosine ou sérine/thréonine ou phosphatases à double spécificité), et leur sensibilité à divers inhibiteurs et ions [8].



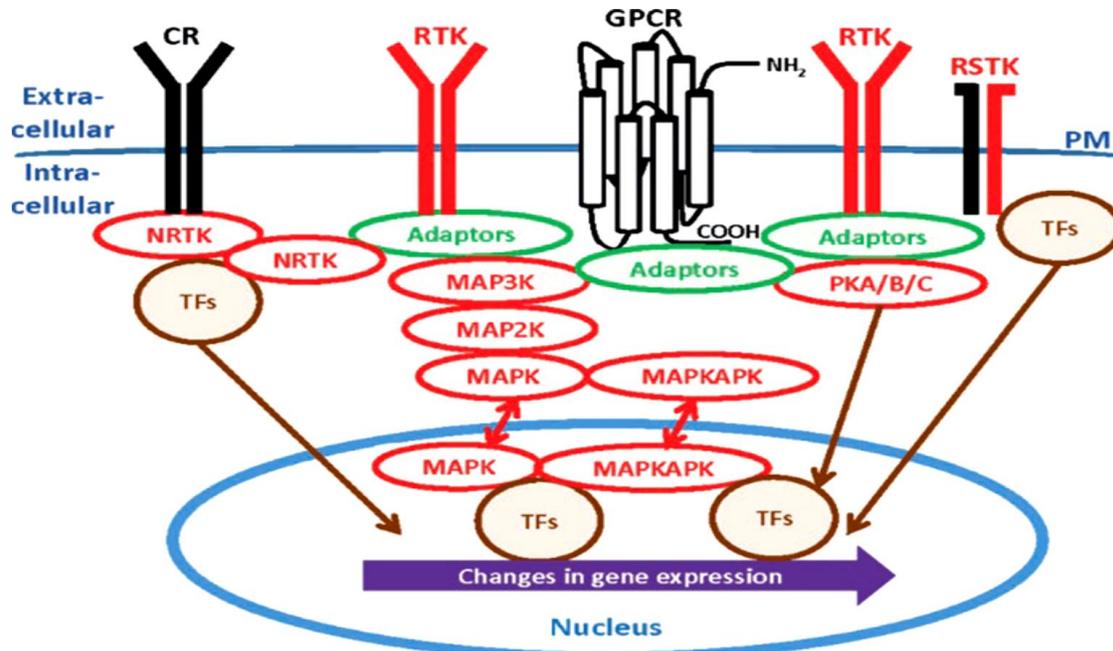
**Figure 6 :** Les réactions de phosphorylation et de déphosphorylation sont catalysées, respectivement, par des protéines kinases et des protéines phosphatases.

### III.1. Aperçu des voies de signalisation des protéines kinases :

Les protéines kinases sont des régulateurs essentiels des fonctions cellulaires et des réponses aux signaux externes. Les protéines kinases remplissent leur rôle de régulation principalement, mais pas toujours, en catalysant le transfert de phosphate de l'ATP sur des substrats. Parmi les plus de 500 gènes distincts qui codent pour les protéines kinases humaines, on estime qu'environ 80 % entrent dans la catégorie des sérine ou thréonine kinases, tandis que les 20

% restants sont des tyrosine ou histidine kinases. Cependant, on estime qu'environ 90 % de tous les événements de phosphorylation dans les cellules humaines se produisent sur des résidus de sérine, tandis qu'environ 10 % se produisent sur des résidus de thréonine, et moins de 1 % des événements de phosphorylation se produisent sur des résidus de tyrosine. Étant donné que la plupart des inhibiteurs de kinases utilisés aujourd'hui en clinique bloquent les actions des tyrosines kinases, ces chiffres suggèrent qu'il existe d'énormes opportunités pour la découverte de nouveaux inhibiteurs de kinases.

Les protéines kinases jouent un rôle important dans la régulation des réponses cellulaires aux signaux extracellulaires. La **figure 7** présente une vue d'ensemble simplifiée des principales voies de signalisation des kinases qui répondent aux signaux extracellulaires, dont on a constaté qu'elles étaient dérégulées dans les maladies et qui sont les cibles des inhibiteurs de kinases. Les cytokines et les facteurs de croissance extracellulaires régulent les réponses cellulaires en interagissant avec les récepteurs à tyrosine kinase (RTK), les récepteurs couplés aux protéines G (GPCR), les récepteurs de cytokine (CR) et les récepteurs à sérine/thréonine kinases (RSTK) liés à la membrane plasmique. L'engagement des ligands extracellulaires induit des changements de conformation des récepteurs qui entraînent la dimérisation et l'activation des protéines monomères des récepteurs et le recrutement de tyrosine kinases non réceptrices intracellulaires (NRTK) et d'autres protéines adaptatrices. Le recrutement de protéines adaptatrices intracellulaires sur les récepteurs activés conduit à l'activation de cascades de kinases et à la régulation de facteurs de transcription et d'expression génique spécifiques. Cependant, les kinases peuvent réguler de nombreux autres processus non génomiques en phosphorylant des substrats cytoplasmiques qui affectent la taille ou la forme de la cellule et sa capacité à migrer et à interagir avec d'autres cellules. Pour ajouter à la complexité, il existe plusieurs exemples de protéines kinases régulant d'autres protéines et des résultats biologiques par le biais de fonctions indépendantes de la catalyse. Dans la plupart des cas où il n'y a pas de transfert de phosphate, l'interaction physique entre une kinase et une protéine particulière est suffisante pour moduler la fonction de la protéine et un résultat biologique ultérieur [9].



**Figure 7 :** Réseaux de signalisation des kinases médiées par les récepteurs.

Les kinases (rouge) ciblent les facteurs de transcription (marron) pour médier les changements dans l'expression des gènes et les réponses cellulaires aux signaux extracellulaires. Les adaptateurs (verts) comprennent les protéines G et les protéines associées qui couplent les récepteurs aux cascades de kinases. Clé : CR récepteur de cytokine, RTK récepteur tyrosine kinase, NRTK tyrosine kinase non réceptrice, RSTK récepteur sérine/thréonine kinase, PM membrane plasmique, TFs facteurs de transcription, MAP3K/MAP2K/MAPK cascade de protéine kinase activée par des agents mitogènes, MAPKAPK protéine kinase activatrice de MAP, PKA/B/C protéine kinase A, B, ou C.

### III.2. Phosphorylation des protéines et maladie :

Compte tenu de l'importance de la phosphorylation dans pratiquement tous les événements physiologiques et cellulaires, il n'est pas surprenant qu'une phosphorylation anormale s'avère être une cause ou une conséquence des maladies humaines. Un certain nombre de maladies résultent en fait de mutations dans des protéines kinases et phosphatases spécifiques. Parmi les gènes de kinase, 244 correspondent à des loci pathologiques ou à des amplicons cancéreux. En outre, de nombreuses toxines d'origine naturelle exercent également leurs effets en modifiant l'état de phosphorylation des protéines. On sait maintenant qu'une phosphorylation anormale des protéines est étroitement associée à des maladies majeures telles que les cancers, le diabète, la polyarthrite rhumatoïde, la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson, voire qu'elle en est la cause.

Ce sont les raisons pour lesquelles le dépistage et l'optimisation des inhibiteurs puissants et sélectifs des protéines kinases et phosphatases se sont intensifiés au cours des dix dernières années.

Cependant, l'idée que l'on puisse réellement cibler les kinases et les phosphatases pour développer des médicaments destinés à traiter les maladies a mis du temps à se développer. La découverte du mécanisme d'action de la cyclosporine, le médicament immunosuppresseur qui a rendu possible la transplantation d'organes, a fortement contribué à cette évolution [8].

### **III.3. Classification des protéines kinases :**

Le classement des kinases peut s'effectuer en fonction de la structure, de la séquence des protéines. Les PK peuvent être classées selon leur localisation dans la cellule. Ils existent des PK cytosoliques et des PK membranaires qui présentent la propriété de récepteurs d'enzymes. Les PK peuvent également être classées en fonction de l'acide aminé qu'elles phosphorylent. Il existe principalement deux grandes classes de protéines kinases, les 'Tyrosine Kinases' (TK) et les 'Sérine/Thréonine Kinases' [11].

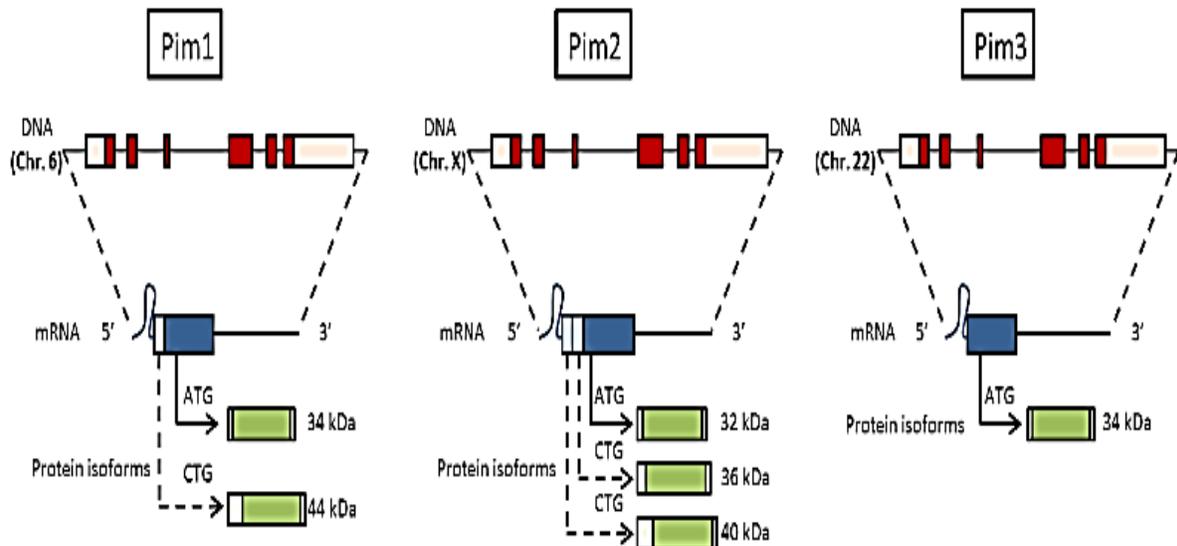
## **IV. Présentation des kinases PIM :**

Les protéines kinases PIM (Proviral Integration site for Moloney murine leukemia virus) constituent une famille d'oncoprotéines dont les gènes PIM ont été identifiés comme les sites d'intégration du virus de la leucémie Moloney.

Les gènes PIM codent pour trois isoformes (PIM-1, PIM-2 et PIM-3) appartenant à la famille des sérine/thréonine kinases et ayant conservé une importante homologie de séquence au cours de l'évolution. Répertoriées au sein du kinome dans la famille des protéines kinases calcium/calmoduline dépendantes (CAMK) (Figure 2), elles sont localisées au niveau cellulaire principalement dans le cytoplasme et le noyau [12].

### **IV.1. Structures de kinases PIM :**

La famille PIM est composée de trois membres, PIM-1, PIM-2 et PIM-3, gènes à copie unique situés sur le chromosome 17 (PIM-1), sur le chromosome X (PIM-2) et sur le chromosome 15 (PIM-3). Ces kinases sont fortement homologues au niveau des acides aminés, mais diffèrent partiellement dans leur distribution tissulaire. Les gènes PIM sont composés de six exons qui donnent lieu à des transcrits d'ARNm qui codent pour différentes isoformes de la protéine PIM de différentes masses moléculaires, qui maintiennent toutes leurs activités sérine/thréonine kinase (Figure 8) [10].



**Figure 8 :** Gènes, transcrits et les différentes isoformes des kinases PIM (adapté de Nawijn et al., 2010).

Les six exons codants l'ARNm de PIM sont représentés en rouge foncé, tandis que la séquence commune aux isoformes est représentée par le bloc bleu foncé. La partie vert foncé indique le domaine catalytique constitutivement actif des isoformes de différents poids moléculaires [12].

Les kinases PIM sont très homologues : au niveau des acides aminés, PIM-1 et PIM-3 sont identiques à 71%, alors que PIM-1 et PIM-2 partagent une homologie de 61% (Figure 9). En raison de cette forte homologie, une certaine redondance fonctionnelle des trois kinases PIM a été démontrée in vitro et in vivo [10].

Contrairement à l'activité d'autres kinases, l'activité des kinases PIM n'est pas principalement régulée par le recrutement membranaire ou la phosphorylation ; au lieu de cela, les kinases PIM sont principalement régulées par la transcription. Les kinases PIM n'ont pas de domaine régulateur et sont constitutivement actives lorsqu'elles sont exprimées. Ainsi, ces protéines semblent être régulées au niveau de la transcription, de la traduction et de la dégradation protéasomal [10].

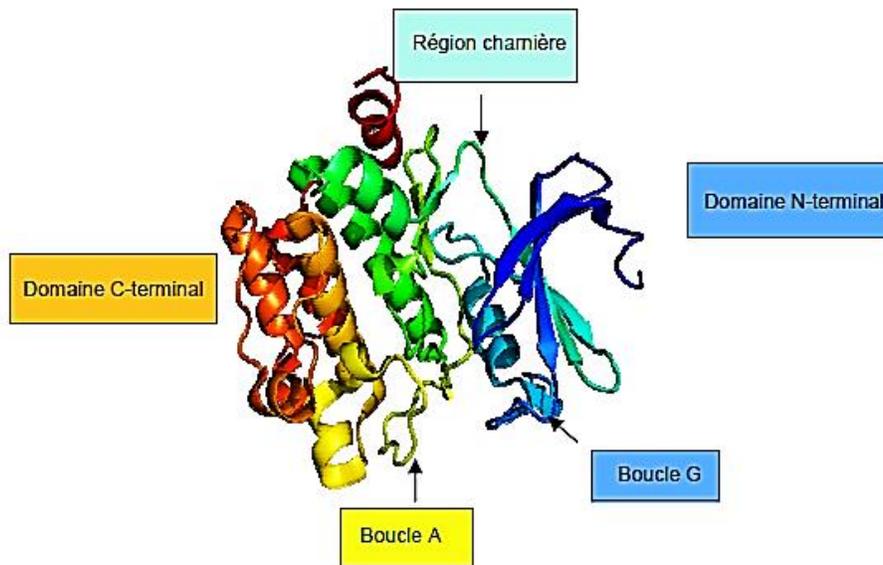


actives. Leur expression est cependant gouvernée par une variété de facteurs de croissance et est régulée à plusieurs niveaux : transcriptionnel, post-transcriptionnel, translationnel et post-translationnel.

Les fonctions des kinases PIM sont variées et concernent de nombreux processus fondamentaux de la biologie cellulaire. L'étendue d'action rend parfois complexe l'élucidation des mécanismes par lesquelles elles interviennent ainsi que l'identification de leurs partenaires. Néanmoins, un certain nombre de leurs fonctions biologiques a été étudié et associé à des processus de transformation maligne [1].

### IV.3. Structure de PIM-1 :

La kinase PIM-1 présente une structure typique constituée de deux lobes : un domaine N-terminal (résidus 33-121) formé principalement de feuillets  $\beta$  et un domaine C-terminal (résidus 128-305) comportant des hélices  $\alpha$ , les deux étant reliés par une région charnière (résidus 121-126) (Figure 10) [1].



**Figure 10 :** Structure cristalline de la kinase PIM-1 (PDB 1xQZ). (D'après Schenone et al).

La poche catalytique, site de fixation de l'ATP, se situe entre les deux lobes et est délimitée par la région charnière, la boucle G (résidus 44-52) riche en glycines et la boucle A (résidus 186-210) dite boucle d'activation (Figure 10) [1].

#### **IV.4. Les inhibiteurs de kinases PIM :**

Au vu de l'implication des PIM dans les phénomènes de cancérogénèse, cette famille de kinases fait l'objet d'un intérêt particulier au sein de la communauté scientifique. Depuis une dizaine d'année elles sont considérées comme des cibles intéressantes pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses.

Le nombre croissant de résolutions aux rayons X de structures tridimensionnelles de co-cristaux de la kinase PIM-1 avec divers inhibiteurs a permis d'identifier les interactions moléculaires mises en jeu et ainsi favoriser la conception de nouveaux inhibiteurs [13].

#### **IV.5. Kinases impliquées dans le déroulement de la différenciation**

##### **mégacaryocytaire : Les kinases PIM :**

Elles jouent des rôles essentiels notamment dans le contrôle de la prolifération et de la survie cellulaire. Elles ont notamment un rôle important dans le compartiment hématopoïétique. En effet, l'inactivation de PIM-1 induit un défaut de repeuplement hématopoïétique, qui n'est pas observé avec l'inactivation de PIM-2 ou PIM-3.

L'analyse du profil d'expression de gènes dans des progéniteurs mégacaryocytaires humains primaires a permis de montrer que PIM-1 est exprimée de façon plus abondante dans ces cellules que des cellules souches hématopoïétiques CD34+. De plus, l'inactivation de PIM-1 dans la lignée cellulaire K562 ou dans des cellules primaires CD34+ conduit à une réduction de la polyploïdisation de ces cellules traitées par la Thrombopoïétine (TPO). A l'inverse, la surexpression de PIM-1 provoque une augmentation de la polyploïdisation dans ces mêmes conditions. Ces résultats suggèrent que l'expression de PIM-1 est nécessaire et suffisante pour induire la polyploïdisation des progéniteurs mégacaryocytaires. Toutefois, PIM-1 ne semble pas nécessaire pour la régulation de la maturation cytoplasmique [13].

## Références bibliographiques:

- [1] Punekar, N.S., Enzymes: Catalysis, kinetics and mechanisms. 1st edition. Springer: 2018.
- [2] Bugg, T.D.H., Introduction to enzyme and coenzyme chemistry. second edition. Springer: 2004.
- [3] Chen, L.S.; Redkar, S.; Taverna, P.; Cortes, J. E.; Gandhi, V., Mechanisms of cytotoxicity to Pim kinase inhibitor, SGI-1776, in acute myeloid leukemia. Blood, 2011 ; volume 118, number 3.
- [4] Arrouchi, H. Repositionnement de la Kinase PIM-1 et du récepteur de la vitamine D comme cibles thérapeutiques pour le Développement de médicaments anticancéreux. Thèse de doctorat Université Mohammed 5 de Rabat, 2019.
- [5] El Hadj, S. k., Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Thèse de master Université de Tlemcen, 2016.
- [6] Copeland, R.A., Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery. Springer: 2005; Vol. 46.
- [7] Saint-Georges, C., OPTIMISATION D'INHIBITEURS DE LA MATRIPTASE-2. Thèse de maître ès sciences (M.Sc.) Université de Sherbrooke Québec, Canada, 2017.
- [8] A. Pinna, L.; T.W. Cohen, P., Inhibitors of Protein Kinases and Protein Phosphates. Springer: 2004; Vol. 167.
- [9] Shapiro, P., Next Generation Kinase Inhibitors: Moving Beyond the ATP Binding/Catalytic Sites. 1st edition. Springer : 2020.
- [10] Stambouli, B., Etude de l'Interaction Protéine-Protéine par Modélisation Moléculaire. Application aux Processus Biologiques. Thèse de doctorat Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 2013.
- [11] Saugues, E., Synthèse de nouveaux inhibiteurs de kinases Pim et de modulateurs des protéines de la famille des Bcl-2, anticancéreux potentiels. Thèse de doctorat Université Blaise Pascal, 2011.
- [12] Mayeux, P., Etude de la stabilité et des mécanismes d'action de la protéine kinase oncogénique Pim-2 dans le Leucémie Aigüe Myéloïde. Thèse de doctorat Université Paris Descartes (Paris V), 2014.

[13] Laure, D., Etude de nouvelles fonctions de la protéine checkpoint kinase 1 (Chk1) au cours de la différenciation myéloïde normale et leucémique. Thèse de doctorat Université de Toulouse 3 Paul Sabatier, 2016.



## **I. Introduction :**

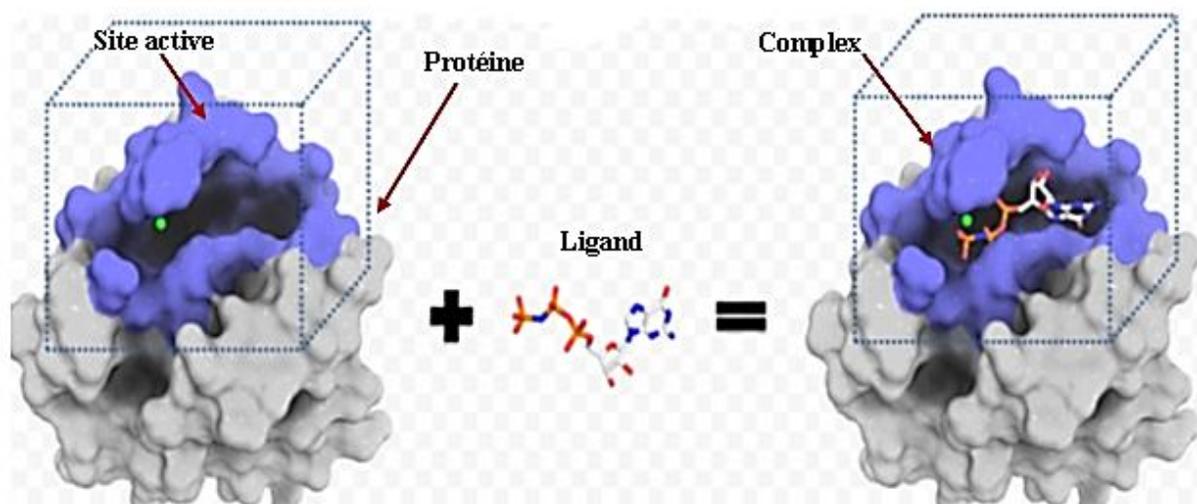
Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle clé dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques, la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques [1]. La connaissance de la structure des complexes permet aux chercheurs de mieux comprendre le mode de fonctionnement mis en jeu lors d'une interaction entre protéine-ligand, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre deux molécules [2].

Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, allant de l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique jusqu'au patient, dans lequel les essais cliniques succèdent au développement préclinique [3], [4], [5]. L'identification et la mise au point d'une molécule possédant l'activité biologique recherchée se fait lors du développement pré-clinique. Elles nécessitent, entre autres, l'investigation de ses propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques, et se basent de plus en plus sur des approches informatisées in silico [4].

La recherche en chimie pharmaceutique ne peut, actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées. Le Docking moléculaire est un outil important dans la conception de médicaments où on utilise une simulation assistée par ordinateur [6]. L'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglosaxon "Docking") et la problématique du « Docking », a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand par étude l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires [2]. Il a pour but de prédire la conformation et l'orientation d'un ligand dans le site actif de la protéine, ainsi que la détermination de mode d'interaction des liaisons probables, et énergétiquement, en prédisant l'affinité de liaison [6]. Il est généralement utilisé pour prédire l'affinité d'un ligand pour une protéine, entre autres, la position et l'orientation la plus favorable pour un ligand venant en interaction avec une protéine cible. Il est utilisé pour faire des criblages très rapides et peu coûteux afin d'identifier une molécule pouvant avoir une forte activité sur une protéine cible ou au contraire d'identifier la cible d'une molécule ayant des activités biologiques intéressantes. Ainsi, il est également utilisé pour optimiser la sélectivité d'une molécule entre deux ou plusieurs protéines [7].

Il est étudié des interactions non-liantes intervenant lors de la formation de complexes (Figure 1) moléculaires telle que : les interactions VDW, les interactions électrostatiques, les interactions Hydrogènes [1].

Le plus souvent, le récepteur est une protéine qui possède un ou plusieurs sites actifs spécifiques, plus ou moins accessibles selon les cas. Le ligand est généralement une molécule flexible étrangère de petite taille. La liaison entre le ligand et le récepteur introduit un signal biologique qui peut avoir diverses formes [1].



**Figure 1** : Représentation schématique du docking de deux molécules.

L'objectif de cette technique est de trouver le meilleur mode de fixation du complexe "Ligand-Récepteur", ainsi de prédire la conformation dite "bioactive" du ligand au sein de son récepteur. En effet, chaque conformation relative issue du docking est associée à une énergie, appelée "Score". La conformation bioactive correspond à l'énergie la plus minimale [8]. Cet outil est actuellement très sollicité dans la recherche de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Il est utilisé pour faire des criblages très rapides et peu coûteux afin d'identifier une molécule pouvant avoir une forte activité sur une protéine cible ou au contraire d'identifier la cible d'une molécule ayant des activités biologiques intéressantes [9].

D'autre part, lorsque la structure tridimensionnelle d'une protéine cible est définie, le docking permet de mettre en évidence les régions et les résidus à explorer pour optimiser l'affinité d'un ligand avec cette cible. Ainsi, il est également utilisé pour optimiser la sélectivité d'une molécule entre deux ou plusieurs protéines.[9]

## ❖ Pharmacocinétique des médicaments :

### 1. Prédiction des propriétés ADME :

Afin de vérifier l'activité pharmacologique des ligands (inhibiteur), des prédictions ADME ont été réalisées en utilisant le serveur SwissADME. Cette activité est exprimée par la production d'un tracé du radar de biodisponibilité pour chaque molécule. Ce tracé comporte six propriétés importantes pour la biodisponibilité orale. Chaque propriété a une plage de valeurs optimales.

Les méthodes d'optimisation multi paramètres permettent de mieux utiliser les données pour cibler rapidement des composés ayant un bon équilibre des propriétés, mais elles ont toutes leurs forces et leurs faiblesses. Par conséquent, nous pouvons utiliser les méthodes d'optimisation multiparamétriques (MPO) pour prédire le meilleur équilibre des propriétés, parmi ces méthodes, nous appliquons des règles de base. Les plus couramment utilisés sont les règles de Lipinski et Veber [10].

#### 1.1. Les propriétés « drug-like » sur la base de Lipinski :

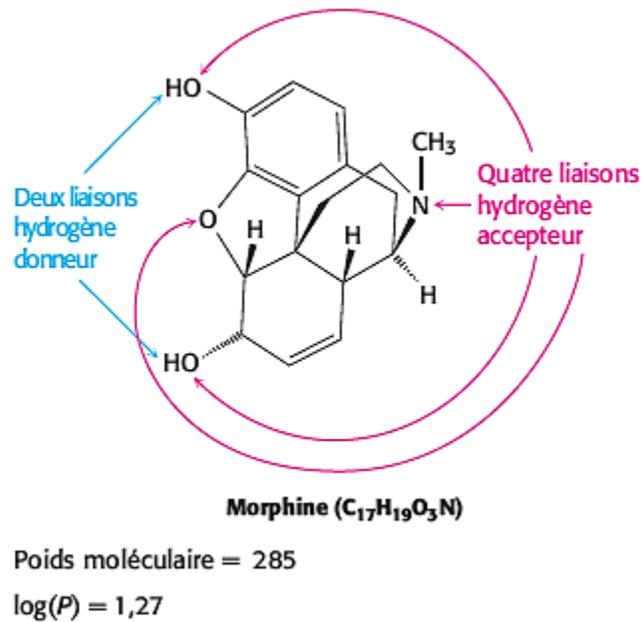
Bien que les chimistes médicaux et pharmaceutiques scientifiques ont utilisé les propriétés structurelles de diverses manières depuis de nombreuses années, les règles sont devenues plus importants et définies dans le domaine du rapport par **Lipinski et al.** de la « règle des 5 », ou ce qui est devenu connu sous le nom des « règles de Lipinski ». Ces règles sont un ensemble de valeurs de propriété qui ont été tirés de la classification des propriétés physico chimiques des composés clés de la drogue, etc.

La règle de Lipinski est la plus utilisée pour caractériser les composés « drug-like ». Nous rappelons que cette règle a pour but d'identifier et sélectionner les composés posant des problèmes d'absorption, distribution, métabolisme et d'excrétion (ADME).

Ces paramètres permettent de déterminer l'absorption orale ou la perméabilité de la membrane qui se produit lorsque la molécule évaluée suit la règle de cinq de Lipinski, la masse moléculaire  $\leq 500$

**u.m.a.**, le coefficient de partage octanol-eau  $\log P \leq 5$  (le  $\log P$  est une mesure de la lipophilie), liaison hydrogène donneurs  $\leq 5$ , atomes d'azote ou oxygène avec un ou plusieurs atomes d'hydrogènes (exprimés comme la somme des groupes OH et NH) et liaison hydrogène accepteurs  $\leq 10$ , atomes d'azote ou oxygène (exprimés comme la somme des atomes N et O) [ 10]

**Exemple :**



**Figure 2 :** Les règles de Lipinski s'appliquent à la morphine. La morphine satisfait à toutes les règles de Lipinski et a une biodisponibilité de 33 % chez l'homme.

## 1.2. La règle de Veber :

Les règles Veber suggèrent que la flexibilité moléculaire (RBN) et la surface polaire (PSA) sont des déterminants importants de la biodisponibilité orale.

Il est bien connu qu'une biodisponibilité orale élevée est un facteur important pour le développement de molécules bioactives en tant qu'agents thérapeutiques. La réduction de la flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale.

Pour une biodisponibilité orale idéale, il existe deux autres descripteurs identifiés par Veber et al :

- ✚ Les liaisons rotatives sont inférieures à 10.
- ✚ La surface polaire est inférieure à  $140 \text{ \AA}^2$  [10].

## 2. La concentration 50% d'un inhibiteur $IC_{50}$ :

Les valeurs d' $IC_{50}$  sont des mesures de la capacité d'un candidat médicament à moduler l'activité de la cible biologique choisie. Pour empêcher des effets non désirés, souvent appelés effets secondaires, des candidats médicaments idéaux ne devraient pas se fixer significativement sur des biomolécules différentes de la cible. Le développement de tels médicaments peut représenter un grand défi, particulièrement si la cible du médicament est un membre d'une grande famille de protéines ayant une origine évolutive commune.

Beaucoup de facteurs compliquent la situation dans les conditions physiologiques. De nombreuses cibles de médicaments fixent aussi des ligands qui sont normalement présents dans les tissus ; ces ligands et les candidats médicaments entrent en compétition pour les sites de fixation présents sur la cible. Supposons que la cible du médicament soit un enzyme et que le candidat médicament soit un inhibiteur compétitif. La concentration du candidat médicament nécessaire pour inhiber l'enzyme dépendra effectivement de la concentration physiologique du substrat normal de l'enzyme.

- Les inhibiteurs rivalisent avec les substrats pour les sites actifs des enzymes. L' $IC_{50}$  mesurée d'un inhibiteur compétitif pour son enzyme cible dépend de la concentration de substrat présente [11].

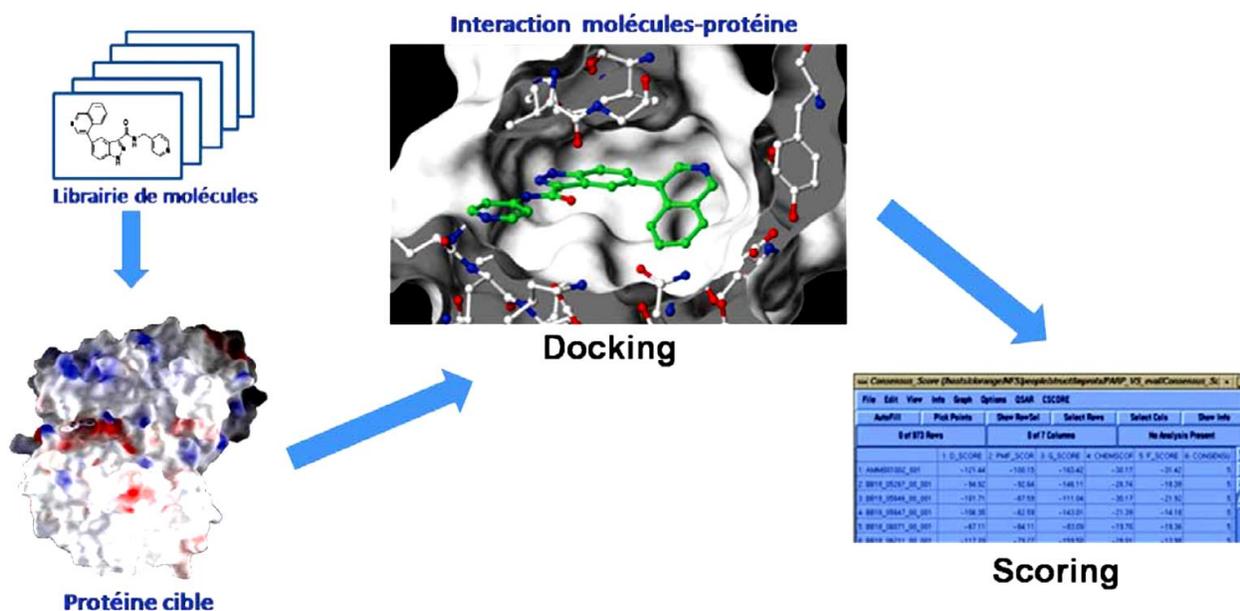
## II. Généralité sur le docking :

Le docking moléculaire est l'étude des interactions non liantes intervenant lors de la formation de complexes moléculaires [9].

Une simulation de docking entre deux molécules comprend essentiellement deux étapes le docking proprement dit et le scoring (Figure3) :

**II.1. La première (le docking) :** est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celle qui représente les modes d'interactions les plus favorables [12].

**II.2. La deuxième (le scoring) :** est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [12].



**Figure 3 :** Principe général d'un programme de docking.

### III. Les outils du docking moléculaire :

Les logiciels de docking sont des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique (protéine) [8].

#### III.1. Ligand :

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme de ligand est le plus

souvent utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique (branches de la chimie inorganique).

En biologie, un ligand (du latin *ligandum*, liant) est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions.

La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent la conformation de cette dernière, c'est-à-dire sa structure en trois dimensions (3D). L'énergie associée aux interactions intermoléculaires formées entre la protéine et son ligand permet de promouvoir ce changement de conformation, appelé ajustement induit. Cette modification structurale peut ainsi moduler éventuellement son état fonctionnel et son activité [8].

La structure des ligands est obtenue par deux moyens :

- Le premier : consiste à utiliser des ligands du pdb ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...) grâce à des logiciels de construction moléculaires tels que Titan.
- Le deuxième : consiste à utiliser des collections de molécules (chimiothèques) virtuelles aussi bien commerciales, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimique les plus utilisées, nous citons la PubChem [8].

### III.2. Récepteur :

Est macromoléculaire étant le plus souvent une protéine ; pour l'obtention des récepteurs, on utilise les structures 3D des protéines qui sont accessibles gratuitement dans la banque de données PDB. Il s'agit d'une grande archive de données structurales de macromolécules biologiques : protéines et acides nucléiques (ADN, ARN). Les données structurales sont obtenues par cristallographie aux rayons X, spectroscopie RMN et sont accessibles gratuitement sur internet via des sites Web définis de ses organisations membres dont : RCSB, PDB, PDBj, PDBe...etc. En mois de mai 2018, la PDB (Protein Data Bank) compte plus de 141616 structures de bio-macromolécules [8].

Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension PDB lisible par les logiciels de docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, ... etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée.

Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [8].

#### IV. Programmes de docking les plus cités :

Plus de 30 logiciels de docking sont actuellement disponibles. Parmi ces programmes d'amarrage moléculaire on peut trouver : comme GOLD, FlexX, DOCK, AutoDock, MOE ou bien UCSF Chimera et Molegro Virtuel Docker (MVD).

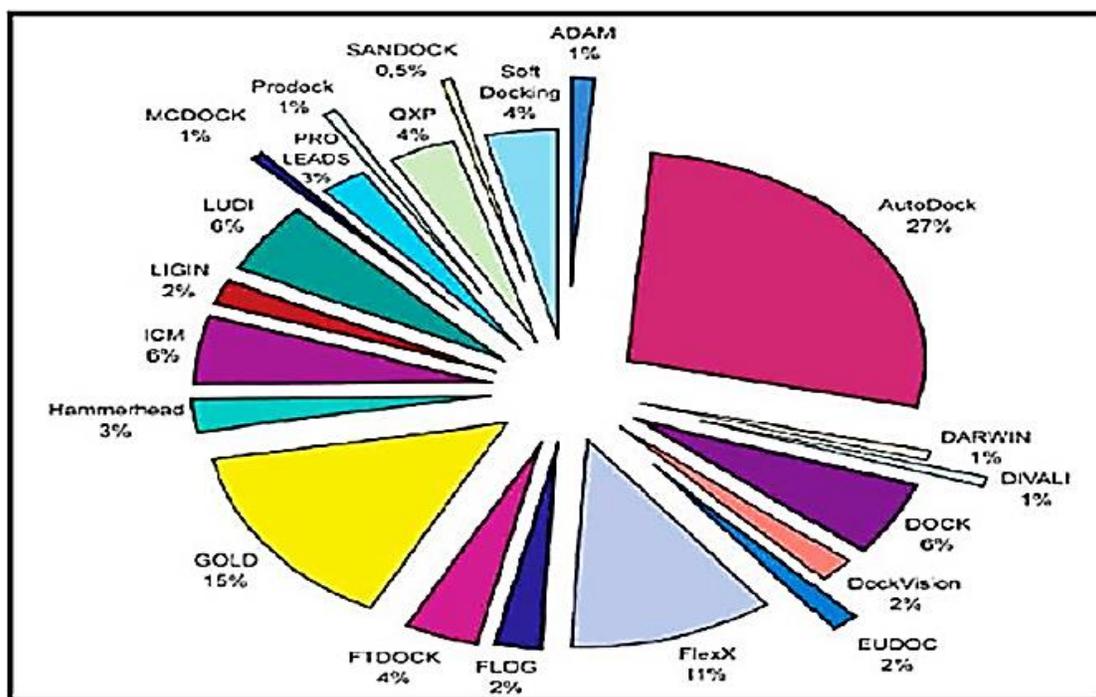


Figure 4 : Comparaison des programmes de docking les plus cités [8].

L'utilisation des programmes de docking a conduit à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives [1].

**Tableau 1** : Principaux programmes de docking moléculaire.

| Nom       | Editeur     | Site Internet   |
|-----------|-------------|---|
| AutoDock  | Scripps     | <a href="http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/">http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/</a>                     |
| Gold      | CCDC        | <a href="http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/">http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/</a>   |
| FlexX     | BioSolveIT  | <a href="http://www.biosolveit.de/FlexX/">http://www.biosolveit.de/FlexX/</a>   |
| Fred      | OpenEyes    | <a href="http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html">http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html</a> |
| Glide     | Schrödinger | <a href="http://www.schrodinger.com/Products/glide.html">http://www.schrodinger.com/Products/glide.html</a>                   |
| Dock      | UCSF        | <a href="http://dock.compbio.ucsf.edu/">http://dock.compbio.ucsf.edu/</a>   |
| ICM       | Molsoft     | <a href="http://www.molsoft.com/products.html">http://www.molsoft.com/products.html</a>                                       |
| LigandFit | Accelrys    | <a href="http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html">http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html</a>               |
| Surflex   | Biopharmics | <a href="http://www.biopharmics.com/products.html">http://www.biopharmics.com/products.html</a>                               |

## V. Type de docking moléculaires :

L'étape d'échantillonnage a pour fonction de générer un ensemble de poses d'un ligand à la surface (circonscrite ou non) d'une protéine. Trois catégories de docking peuvent être établies selon la manière dont la flexibilité des molécules est traitée au cours de l'échantillonnage [13] :

### V.1. Docking rigide :

Le docking rigide, au cours duquel la protéine et le ligand sont tous deux traités comme entièrement rigides. Ainsi, seuls les degrés de liberté translationnels et rotationnels du ligand relativement au récepteur sont explorés. Cette simplification s'apparente à considérer un modèle de liaison de type "serrure-clé" où ni le ligand ni le récepteur ne subissent de réarrangements conformationnels suite à leur interaction. Le docking rigide est généralement employé pour l'amarrage entre deux macromolécules (docking protéine-protéine ou protéine/acide nucléique structuré) pour lesquelles les degrés de liberté sont trop importants pour réaliser un échantillonnage conformationnel efficace dans des temps de calculs raisonnables [13], la recherche de la pose optimale se limite au positionnement. Cette opération consiste en la recherche exhaustive dans

l'espace discrétisé des 6 degrés de liberté. Certains programmes, s'ils n'appartiennent pas à la famille des techniques de docking rigide, utilisent plusieurs étapes successives d'optimisation dont les premières peuvent s'apparenter à du docking rigide. Par exemple, le programme Glide, utilise initialement, dans son approche multi-étape, une recherche systématique pour positionner le ligand de façon approchée au sein du site actif de la protéine [14].

## **V.2. Docking flexible :**

Lorsque les méthodes de docking prennent en compte la flexibilité du ligand, deux étapes sont effectuées successivement pendant toute la durée du docking. La première étape correspond à une exploration de l'espace conformationnel de manière à retrouver, parmi les conformations proposées, la conformation bioactive. Pendant la deuxième étape une fonction de score évalue ces conformations. Il existe plusieurs types d'algorithmes pour le traitement de la flexibilité du ligand : les méthodes systématiques (Fragmentation/reconstruction), les méthodes aléatoires, et les méthodes de simulation (dynamique moléculaire) [14].

## **V.3. Docking semi-flexible :**

Lorsque l'espace conformationnel des ligands est exploré, le nombre de degrés de liberté de l'espace de recherche peut être conséquent dans le cas de molécules très flexibles. Dans un tel contexte, l'emploi de méthodes de recherche exhaustives apparaît souvent inapproprié car nécessitant des simplifications importantes au niveau de l'échantillonnage. D'autres algorithmes, dits de fragmentation, sont employés pour construire de façon incrémentielle le ligand au sein du site actif de la protéine. L'espace des conformations du ligand est alors restreint au voisinage d'un ensemble initial d'états simplifiés. Cette stratégie de recherche par construction, qui se présente sous diverses variantes, est notamment adoptée par les programmes DOCK, Flex, et Hammer Head [14].

## **VI. La cible enzymatique :**

Afin d'obtenir expérimentalement la structure d'une protéine, plusieurs étapes sont nécessaires :

- ❖ L'isolement du gène.
- ❖ Le clonage.
- ❖ Expression dans un organisme adéquat.
- ❖ Purification de la dose de la protéine obtenue.

- ❖ Dans certains cas élimination du fragment ajouté à la protéine.

Ces étapes de la biologie moléculaire restent encore délicates et limitent le travail. La structure tridimensionnelle est la plus souvent obtenue à partir de l'échantillon par diffraction de rayons X.

Pour ces méthodes, les molécules doivent auparavant être préparées sous forme de cristal, mais la cristallogénèse reste une étape hautement empirique et difficile. La possibilité d'obtenir des cristaux complexe protéine-ligand est bien plus intéressante leur réalisation reste difficile. Les structures obtenues sont fournies par les banques de données ajoutées ; PDB, le nombre de structures d'une même molécule avec ou sans ligand permettent d'avoir une information pertinente [12].

## **VII. Etape de docking moléculaire :**

La première étape consiste au téléchargement des structures chimiques des cibles à traiter (Enzyme dans notre cas), pour cela il est nécessaire d'aller directement à la Bank PDB (<https://www.rcsb.org/>) et déterminer où sont déposées les structures de ces cibles.

Ensuite, la PDB contient plusieurs milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie (rayons X), soit par RMN. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la Bank PDB, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée.

Après le téléchargement de la cible (PDB), nous utilisons un logiciel de visualisation pour voir avec quels ligands l'enzyme est co-cristallise (eau, ligands, ion...).

La deuxième étape, concerne les structures du (ou des) ligand(s) utilisé(s) lors du docking moléculaire. Il y a deux grandes bases de données de structures chimiques des ligands. La première représente ces structures par les programmes d'informatiques de modélisation moléculaire, où les différentes structures sont générées par optimisation de géométrie. Ces structures sont gouvernées par les lois de la chimie quantique. Dans le deuxième cas elles sont obtenues à partir des bases de données comme Pub Chem Project ou autres bases de données des structures. Ces dernières ont différentes extensions comme PDB (Protein Data Bank), SDF, ...ect [12].

## ❖ ENERGIE :

L'énergie est l'un des concepts les plus utiles de la science. L'analyse de l'énergétique permet de prédire quels processus moléculaires sont susceptibles de se produire, ou capables de se produire. Toutes les techniques de chimie computationnelle définissent l'énergie de telle sorte que le système ayant l'énergie la plus basse soit le plus stable. Ainsi, trouver la forme d'une molécule correspond à trouver la forme ayant la plus faible énergie [15].

La quantité d'énergie dans un système est souvent décomposée en énergie cinétique et énergie potentielle :

- **L'énergie cinétique** peut être subdivisée en mouvements de vibration, de translation et de rotation. Une distinction est également faite entre l'énergie cinétique due au mouvement nucléaire et celle due au mouvement des électrons.
- **L'énergie potentielle** peut être exprimée uniquement par la loi de Coulomb, ou être décomposée en énergies d'étirement et de flexion des liaisons, en énergie de conformation, en liaisons hydrogènes, etc [15].

Les processus chimiques, tels que l'étirement des liaisons ou les réactions, peuvent être divisés en processus adiabatiques et diabatiques. Les processus adiabatiques sont ceux dans lesquels le système ne change pas d'état tout au long du processus. Les processus adiabatiques, ou non-adiabatiques, sont ceux dans lesquels un changement de l'état électronique fait partie du processus. Les processus adiabatiques suivent généralement le chemin de l'énergie la plus basse, en changeant d'état si nécessaire [15].

## ❖ Méthodes semi-empiriques :

L'avantage des calculs semi-empiriques est qu'ils sont beaucoup plus rapides que les calculs ab initio. L'inconvénient des calculs semi-empiriques est que les résultats peuvent être erratiques et que peu de propriétés peuvent être prédites de manière fiable. Si la molécule calculée est similaire aux molécules de la base de données utilisée pour paramétrer la méthode, les résultats peuvent être très bons. Si la molécule calculée est très différente de tout ce qui se trouve dans l'ensemble de paramétrage, les réponses peuvent être très mauvaises ; ainsi, ces molécules peuvent ne pas être bien prédites si elles ne sont pas incluses dans la paramétrisation. Cependant, les méthodes semi-

empiriques ne sont pas aussi sensibles au jeu de paramétrage que les calculs de mécanique moléculaire [15].

Les méthodes semi-empiriques sont paramétrées pour reproduire divers résultats. Le plus souvent, la géométrie et l'énergie (généralement la chaleur de formation) sont utilisées. Certains chercheurs ont étendu cette méthode en incluant les moments dipolaires, les chaleurs de réaction et les potentiels d'ionisation dans l'ensemble de paramétrage. Les calculs semi-empiriques peuvent être utilisés pour calculer des propriétés autres que celles de l'ensemble de paramétrage. De nombreuses méthodes semi-empiriques calculent les énergies en tant que chaleurs de formation [15].

Les calculs semi-empiriques ont connu un grand succès dans la description de la chimie organique, où seuls quelques éléments sont utilisés de manière intensive et où les molécules sont de taille moyenne. Certaines méthodes semi-empiriques ont également été conçues spécifiquement pour la description de la chimie inorganique. Voici quelques-unes des méthodes semi-empiriques les plus couramment utilisées [15].

#### AM1 :

Le modèle 1 d'Austin 1 (AM1) est encore populaire pour la modélisation des composés organiques. AM1 prédit généralement les chaleurs de formation ( $\Delta H_f$ ). Selon la nature du système et les informations souhaitées, AM1 ou PM3 donneront souvent les résultats les plus précis que l'on puisse obtenir pour les molécules organiques avec les méthodes semi-empiriques.

Les résultats obtenus à l'aide de ces méthodes présentent certaines forces et limites connues, certaines limites connues aux énergies AM1, telles que la prédiction des barrières de rotation à un tiers de la barrière réelle et la prédiction des anneaux à cinq membres comme étant trop stables. La chaleur de formation prédite a tendance à être inexacte pour les molécules avec une grande quantité de localisation de charge. Les géométries impliquant phosphore sont mal prédites [15].

#### PM3 :

La méthode de paramétrage 3 (PM3) utilise presque les mêmes équations que la méthode AM1 ainsi qu'un ensemble amélioré de paramètres. La méthode PM3 est aussi actuellement extrêmement populaire pour les systèmes organiques. Elle est plus précise que AM1 pour les angles de liaison hydrogène, mais AM1 est plus précise pour les énergies de liaison hydrogène. Les

méthodes PM3 et AM1 sont également plus populaires que d'autres méthodes semi-empiriques en raison de la disponibilité d'algorithmes permettant d'inclure les effets de solvation dans ces calculs [15].

## Références bibliographiques :

[1] Makhloufi, k. ; Lazreg, I., Conception in silico de nouveaux composés anticancéreux. Thèse de master Université Mohamed Khider de Biskra, 2019.

[2] Ghadhab, E.-H. T. ; Soufi, M., Application du docking moléculaire par surflex pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2). Thèse de master Université des Frères Mentouri Constantine1, 2020.

[3] Benaiche, S. ; Dekkiche, Z. ; Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang. Thèse de master Université Frères Mentouri Constantine1, 2018.

[4] Stambouli, B., Etude de l'Interaction Protéine-Protéine par Modélisation Moléculaire. Application aux Processus Biologiques. Thèse de doctorat Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 2013.

[5] Merzoug, A., Étude in silico de l'inhibition de la peptide déformylase. Thèse de magistère Université Mentouri Constantine, 2012.

[6] Bounasla, S. ; Zerdaoui, S., Docking moléculaire de deux flavones naturels contre l'acétylcholinestérase et le butylcholinestérase. Thèse de master Université Mohamed Boudiaf – M'sila, 2020.

[7] Mady Traore, M., Synthèse et études de modélisation moléculaire dans l'optimisation de la sélectivité de nouveaux agents antiparasitaires inspirés de produits naturels. Thèse de doctorat Université Grenoble Alpes, 2016.

[8] Hammad, S. Conception par bio-informatique et modélisation moléculaire de nouvelles molécules bioactives dans le domaine du cancer. Thèse de doctorat Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), 2020.

[9] Hasni, F., Etude de l'inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BuChE) par des méthodes de la modélisation moléculaire. Thèse de master Université Mohamed Khider de Biskra, 2021.

[10] Sebaa, Z., Etude computationnelle de la relation structure- activité dans des séries de composés hétérocycliques à intérêt thérapeutique. Thèse de doctorat Université des Sciences et Techniques d'Oran Mohamed Boudiaf, 2019.

[11] Berg, J.; Tymoczko, J.; Stryer, L., Biochimie. Edition :7. Springer : 2013.

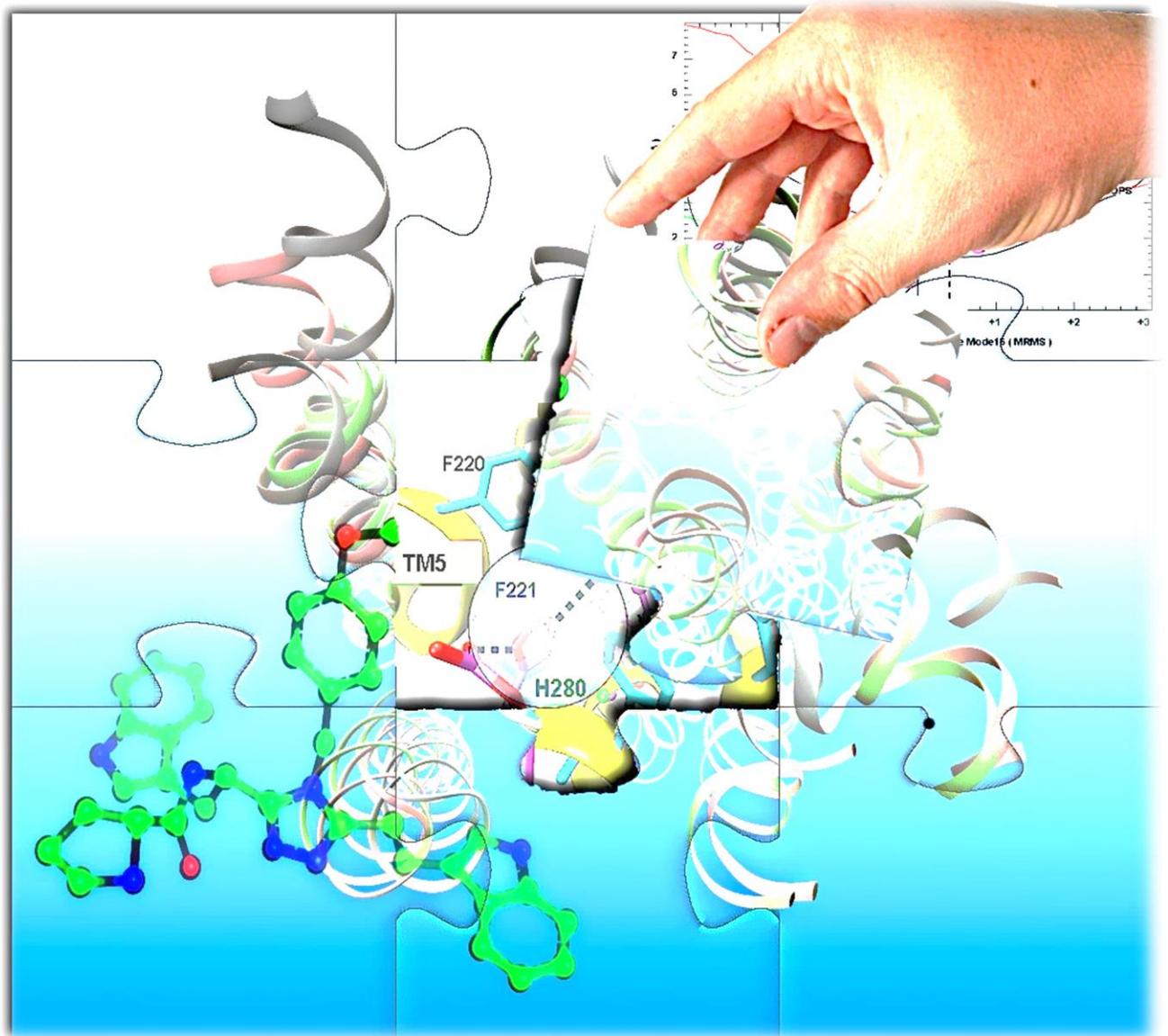
[12] Lalout, W., Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules : Cas de la Maladie de Parkinson. Thèse de doctorat Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, 2016.

[13] Chevrollier, N., Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Thèse de doctorat Université Paris-Sud, 2019.

[14] Sehil M. ; Benabdallah, A., Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la tyrosine kinase EGFR. Thèse de master Université Mohamed Khider de Biskra, 2021.

[15] Young, D., Computational chemistry: a practical guide for applying techniques to real world problems. Edition :1. Springer : 2001.

# CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION



## **I. Introduction :**

La modélisation moléculaire englobe les différentes méthodes de calculs théoriques utilisées dans des différents domaines comme : Chimie, Biologie, Pharmacie et médecine. Elle permet de déterminer, la représentation graphique de la géométrie, la configuration des atomes d'une molécule et évaluer les propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée [1].

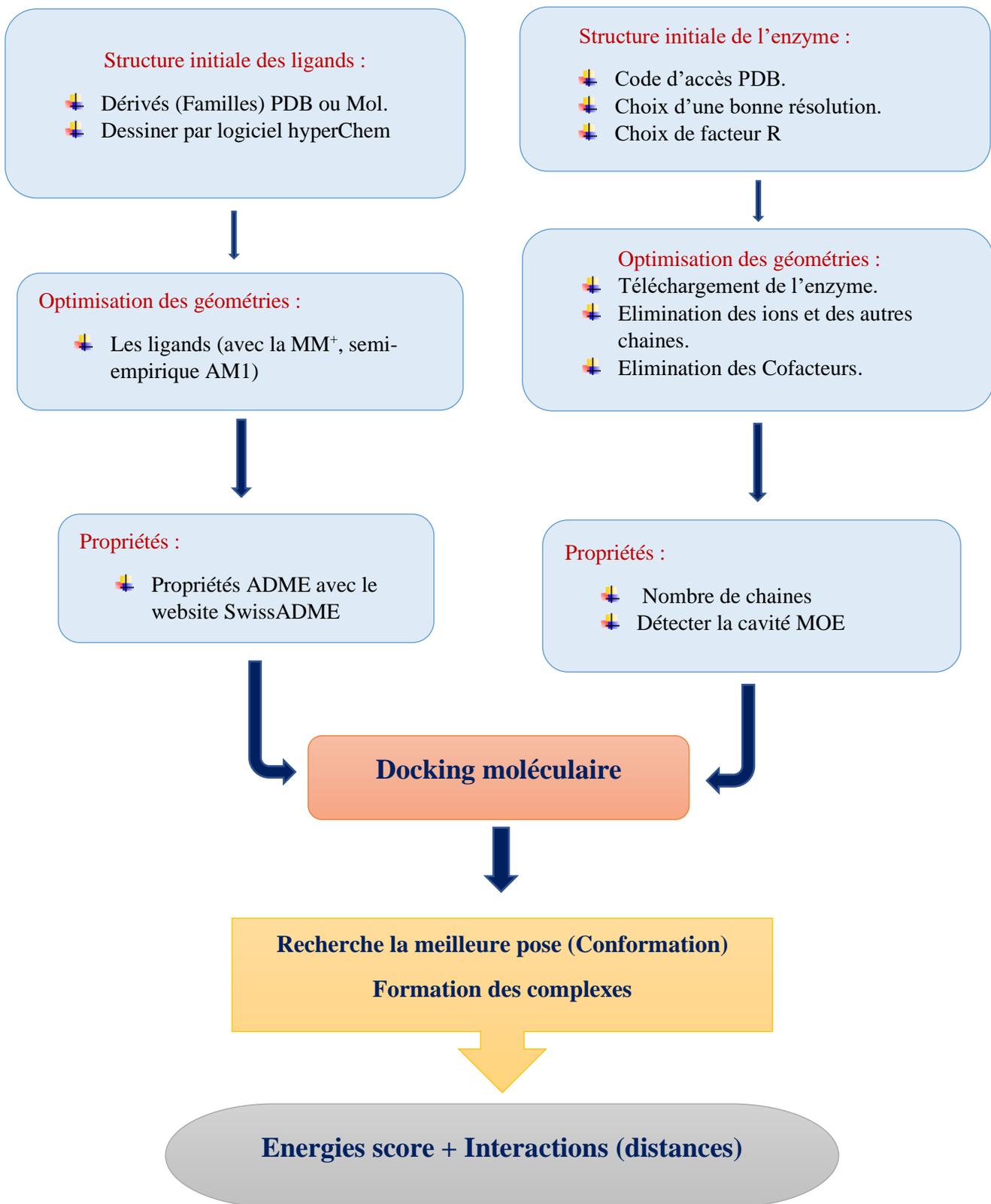
La bio-informatique est une science multidisciplinaire. Elle se situe au carrefour entre la biologie, l'informatique, la chimie et beaucoup d'autres disciplines. Elle est constituée par l'ensemble des concepts et des techniques nécessaires à l'interprétation informatique et la prédiction des informations issues des données de la biologie expérimentale, afin d'établir les liens entre la structure des macromolécules biologiques, leurs fonctions et leurs activités cellulaires dans l'organisme.

Les principales méthodes de modélisation moléculaire et bio-informatiques, que nous avons utilisées pour la recherche de nouveaux inhibiteurs de la protéine kinase PIM-1, impliquée dans de nombreuses pathologies cancéreuses [2].

Ce travail consiste à étudier les interactions entre une nouvelle série de 3-(pyrazin-2-yl) - 1H-indazoles avec l'enzyme (kinase PIM-1) par les méthodes de modélisation moléculaire (docking moléculaire) en utilisant le logiciel MOE. Une étude des propriétés ADME (Absorption Distribution Métabolisme et Elimination) a été effectuée avant de faire l'étude de docking moléculaire afin d'évaluer leurs propriétés et de sélectionner ceux qui ne posent pas de problème avec la biodisponibilité orale.

Au niveau de ce chapitre, nous présentons la discussion des résultats obtenus au cours de calcul effectués, sachant que cette discussion est basée sur deux paramètres : l'énergie (Score) et les distances des interactions existantes entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme (résidus de site actif) et les inhibiteurs en question.

Premièrement, Nous avons, schématisé un organigramme qui résume toutes les étapes de calcul au cours de ce travail (Figure 1) : [2]



**Figure 1 :** Procédure suivie dans l'étude de docking moléculaire.

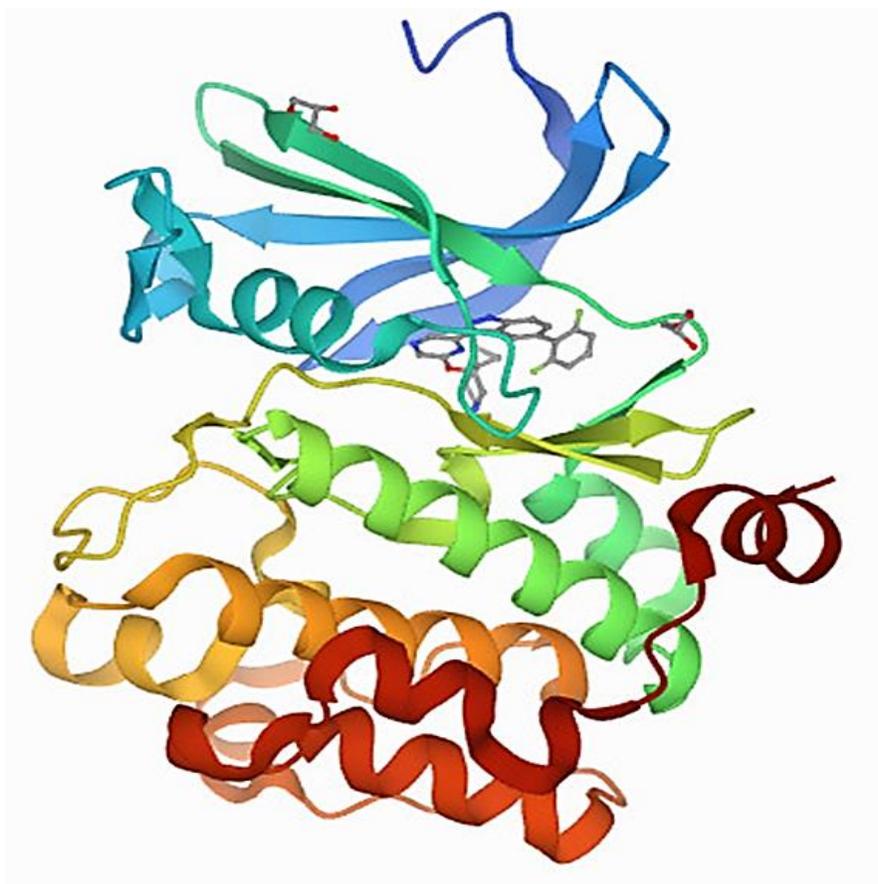
## II. Méthodes de calcul :

### II.1. Préparation et optimisation d'enzyme et des ligands :

#### II.1.a. Préparation et optimisation du récepteur :

Le téléchargement de l'enzymes a été fait à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)) [3].

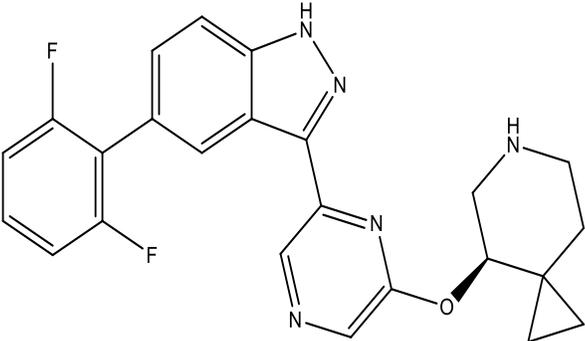
La structure cristalline de la kinase PIM-1 humaine (ID : 4WRS) [4] est co-cristallisé avec l'inhibiteur [3-{6-[(4R)-6-azaspiro[2.5]oct-4-yloxy]pyrazin-2-yl}-5-(2,6- ifluorophenyl)-1H-indazole] (**3U1**) de formule  $C_{24}H_{21}F_2N_5O$  (Figure 2).



**Figure 2** : Structure du récepteur kinase PIM-1 humaine (ID : 4WRS).

La structure tridimensionnelle de l'enzyme a été obtenue par diffraction en rayon X. Les données de la co-cristallisation sont résumées dans le **tableau 1**.

**Tableau 1** : Données cristallographiques.

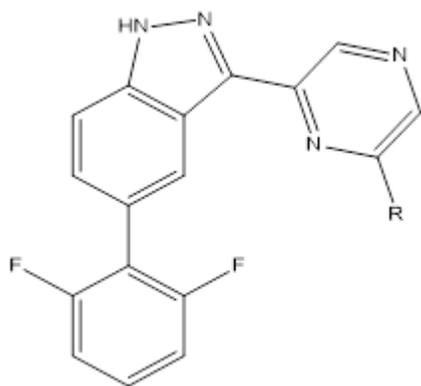
| Enzyme                  | Inhibiteur de co-cristallisation  | Classification                               | Polymère | Chaîne | Résolution (Å) |
|-------------------------|---|--|----------|--------|----------------|
| Pim-1<br>(ID :<br>4WRS) |  | Transférase/<br>Inhibiteur de<br>transférase | 1        | A      | 2.20           |

### II.1.b. Préparation des structures de dérivés de l'indazole :

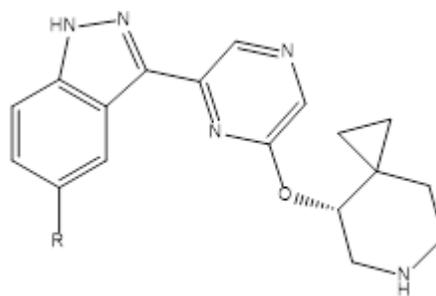
Le ligand est généralement une molécule organique. On utilise des logiciels a interface graphique ou des logiciels de la modélisation moléculaire pour dessiner la structure de départ de ces molécules.

Tous les composés utilisés ont été dessinés et optimisés par le logiciel HyperChem 7 [5] en utilisant à la fois la mécanique moléculaire, champ de force MM<sup>+</sup> [5] et la méthode semi-empirique AM1 [6]. Les molécules ainsi obtenues sont enregistrées au format **pdb** ou **mol 2**.

**Tableau 2 : Structures chimiques des ligands.**

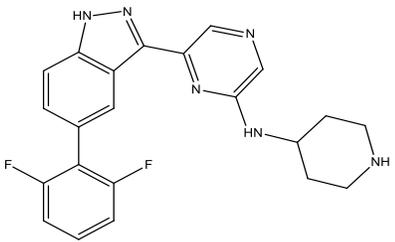
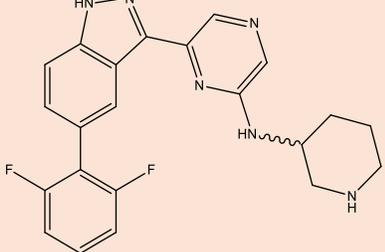
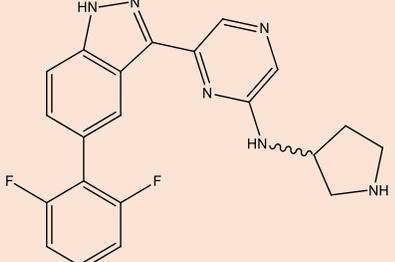
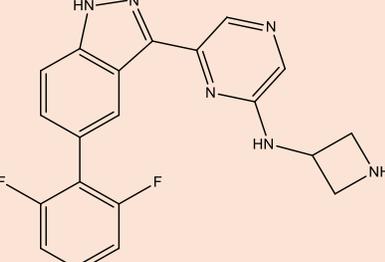
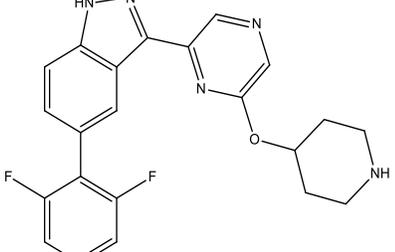
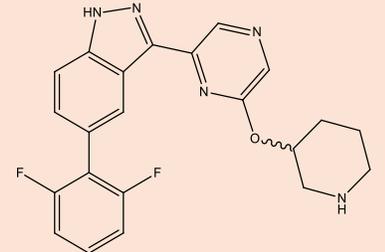
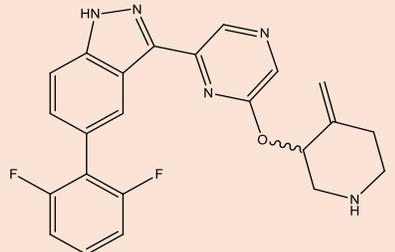
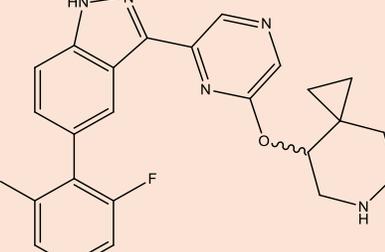
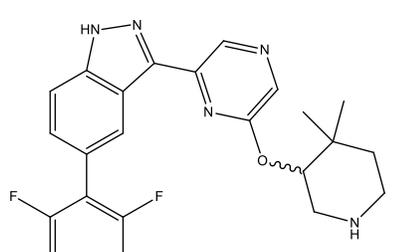
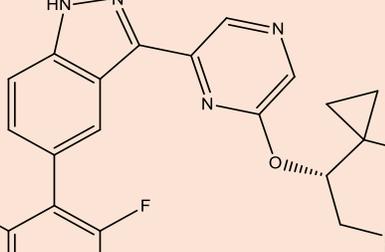


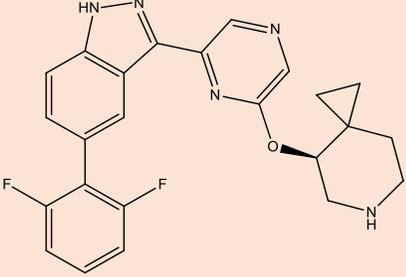
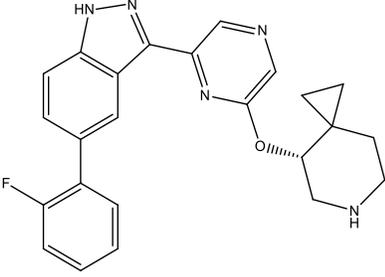
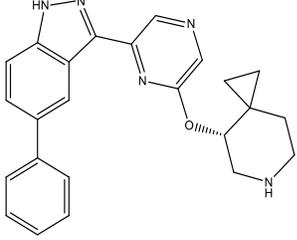
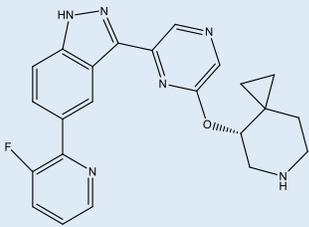
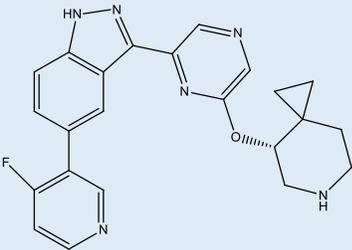
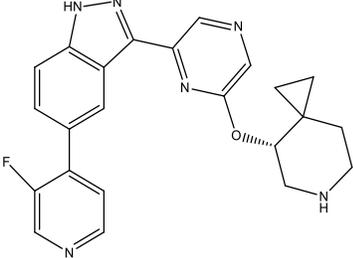
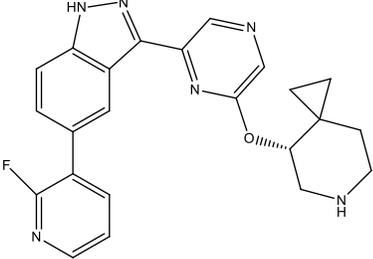
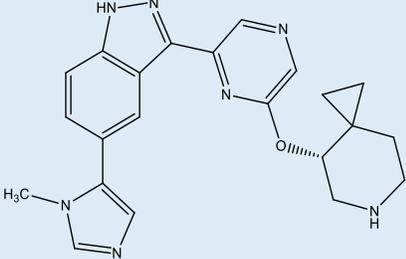
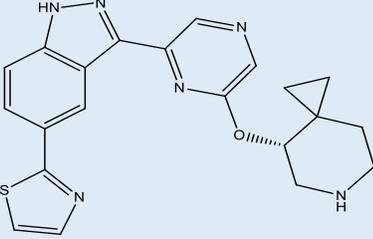
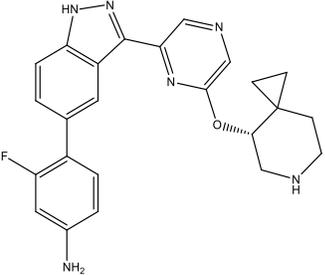
**13a-p**

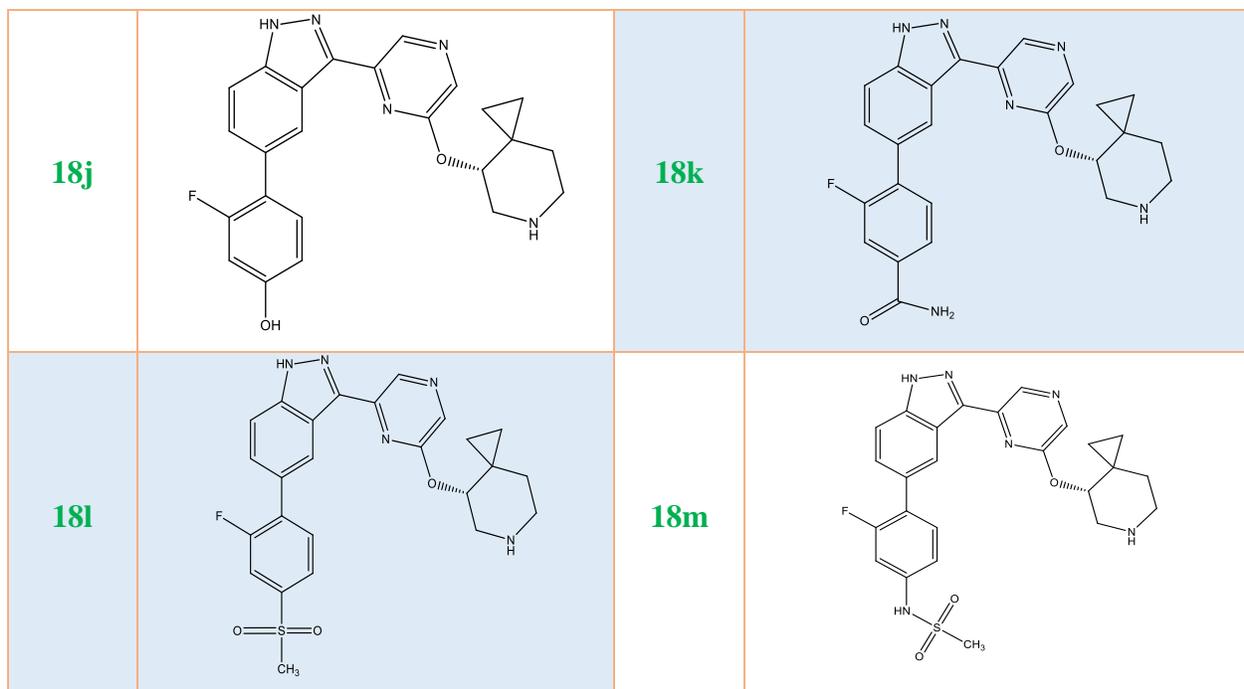


**18a-p**

| Compd      | Structure | Compd      | Structure |
|------------|-----------|------------|-----------|
| <b>3</b>   |           | <b>13a</b> |           |
| <b>13b</b> |           | <b>13c</b> |           |
| <b>13d</b> |           | <b>13e</b> |           |

|                   |   |                   |  |
|-------------------|---|-------------------|--|
| <p><b>13f</b></p> |    | <p><b>13g</b></p> |    |
| <p><b>13h</b></p> |    | <p><b>13i</b></p> |    |
| <p><b>13j</b></p> |   | <p><b>13k</b></p> |   |
| <p><b>13l</b></p> |  | <p><b>13m</b></p> |  |
| <p><b>13n</b></p> |  | <p><b>13o</b></p> |  |

|                   |   |                   |   |
|-------------------|---|-------------------|---|
| <p><b>13p</b></p> |    | <p><b>18a</b></p> |     |
| <p><b>18b</b></p> |    | <p><b>18c</b></p> |    |
| <p><b>18d</b></p> |   | <p><b>18e</b></p> |   |
| <p><b>18f</b></p> |  | <p><b>18g</b></p> |   |
| <p><b>18h</b></p> |  | <p><b>18i</b></p> |  |



## II.2. Etude des propriétés ADME de dérivés de l'indazole :

Pour évaluer la biodisponibilité orale de dérivés de l'indazole, l'étude des propriétés ADME a été utilisée pour sélectionner les ligands respectant les différentes règles à savoir ces critères : les règles de Lipinski (règle du 5) et la règle de Veber ( $NROTb < 10$  et  $TPSA < 140 \text{ \AA}^2$ ) doivent être respectées. Nous avons calculé ces propriétés en utilisant le calcul de propriété en ligne SwissADME [7].

## II.3. Etude de docking moléculaire de dérivés de l'indazole :

Dans le docking moléculaire il y a plusieurs logiciels, un de ces logiciels le MOE (Molecular Operating Environment) [8], il est basé sur un type de docking semi-flexible et généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, où la chaîne principale de l'enzyme est rigide et le ligand est flexible. Il nous permet d'étudier les interactions entre l'enzyme de 4WRS (kinase PIM-1) et les dérivés d'indazoles qu'ils se forment des complexes pour choisir les plus stables selon certains critères et de mieux comprendre le mécanisme moléculaire de l'inhibition.

### III. Résultats et discussions :

#### III.1. Evaluation des propriétés ADME in silico de dérivés de l'indazole :

Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion (ADME) est une dernière méthode a été proposé pour sélectionner les ligands respectant les différentes règles à savoir : Règle de Lipinski [9] et Règle de veber [10]. Ces calculs ont été effectués en utilisant le lien suivant : <http://www.swissadme.ch/index.php> .

Une étude computationnelle de tous les composés de la série choisie a été effectuée afin d'évaluer leurs propriétés ADME. Les valeurs obtenues figurent dans le tableau 3.

**Tableau 3 :** Propriétés ADME pour les composés.

|     | La règle de veber |                              | La règle de lipinski          |                            |                        | G L<br>absorption | Nombre de<br>violation |
|-----|-------------------|------------------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------|-------------------|------------------------|
|     | NROTB < 10        | TPSA < 140<br>Å <sup>2</sup> | N H-bond<br>accepteur<br>< 10 | N H-bond<br>donneur<br>< 5 | Log P<br>(M LOG P) < 5 |                   |                        |
| 3   | 3                 | 83,72                        | 6                             | 2                          | 2,66                   | High              | 0                      |
| 13a | 3                 | 83,72                        | 6                             | 2                          | 2,66                   | High              | 0                      |
| 13b | 3                 | 83,72                        | 6                             | 2                          | 2,45                   | High              | 0                      |
| 13c | 3                 | 69,73                        | 6                             | 2                          | 2,66                   | High              | 0                      |
| 13d | 3                 | 69,73                        | 6                             | 2                          | 2,45                   | High              | 0                      |
| 13e | 3                 | 77,93                        | 6                             | 2                          | 2,66                   | High              | 0                      |
| 13f | 4                 | 78,52                        | 6                             | 3                          | 2,66                   | High              | 0                      |
| 13g | 4                 | 78,52                        | 6                             | 3                          | 2,66                   | High              | 0                      |
| 13h | 4                 | 78,52                        | 6                             | 3                          | 2,45                   | High              | 0                      |
| 13i | 4                 | 78,52                        | 6                             | 3                          | 2,23                   | High              | 0                      |
| 13j | 4                 | 75,72                        | 7                             | 2                          | 2,66                   | High              | 0                      |
| 13k | 4                 | 75,72                        | 7                             | 2                          | 2,66                   | High              | 0                      |
| 13l | 4                 | 75,72                        | 7                             | 2                          | 2,80                   | High              | 0                      |
| 13m | 4                 | 75,72                        | 7                             | 2                          | 3,08                   | High              | 0                      |
| 13n | 4                 | 75,72                        | 7                             | 2                          | 3,08                   | High              | 0                      |
| 13o | 4                 | 75,72                        | 7                             | 2                          | 3,08                   | High              | 0                      |
| 13p | 4                 | 75,72                        | 7                             | 2                          | 3,08                   | High              | 0                      |
| 18a | 4                 | 75,72                        | 6                             | 2                          | 2,71                   | High              | 0                      |

|     |   |        |   |   |      |      |               |
|-----|---|--------|---|---|------|------|---------------|
| 18b | 4 | 75,72  | 5 | 2 | 2,34 | High | 0             |
| 18c | 4 | 88,61  | 7 | 2 | 1,70 | High | 0             |
| 18d | 4 | 88,61  | 7 | 2 | 1,70 | High | 0             |
| 18e | 4 | 88,61  | 7 | 2 | 1,70 | High | 0             |
| 18f | 4 | 88,61  | 7 | 2 | 1,70 | High | 0             |
| 18g | 4 | 93,54  | 6 | 2 | 0,76 | High | 0             |
| 18h | 4 | 116,85 | 6 | 2 | 1,20 | High | 0             |
| 18i | 4 | 101,74 | 6 | 3 | 2,18 | High | 0             |
| 18j | 4 | 95,95  | 7 | 3 | 2,18 | High | 0             |
| 18k | 5 | 118,81 | 7 | 3 | 1,93 | High | 0             |
| 18l | 5 | 113,62 | 8 | 3 | 2,41 | High | 0             |
| 18m | 6 | 130,27 | 8 | 3 | 1,49 | LOW  | 1<br>(MW>500) |

Selon les résultats du tableau 3 :

- ❖ Tous les composés sont conformes aux règles de Lipinski de cinq : une masse moléculaire inférieure à 500 DA, le coefficient de partition log P est inférieur à cinq et le nombre de liaisons hydrogènes dans l'intervalle approprié de Lipinski (HBD <5 et HBA <10).
- ❖ Tous les composés ont une haute absorption, sauf le composé 18m a une faible absorption.
- ❖ Tous les composés sont en accord aux règles de Veber avec des valeurs de PSA dans la gamme de 69,73 - 130,27 Å<sup>2</sup>, qui permettent une très bonne corrélation avec l'absorption intestinale humaine.
- ❖ On outre, ces composés sont flexibles avec un certain nombre de liaisons rotatives (NROTb) dans la gamme de 3-6.

Ces résultats permettent de confirmer que ces composés ne causent aucun problème de biodisponibilité orale et ayant de bonnes propriétés analogues à celles des médicaments pour la cible (ID :4WRS).

### III.2. Résultats de docking moléculaire :

Les outils de modélisation moléculaire sont particulièrement performants pour l'étude au niveau atomique d'interactions entre deux entités moléculaires (l'enzyme et l'inhibiteur pour

former un complexe stable) et ce type d'étude fait appel le plus souvent aux techniques de « Docking Moléculaire ». [11].

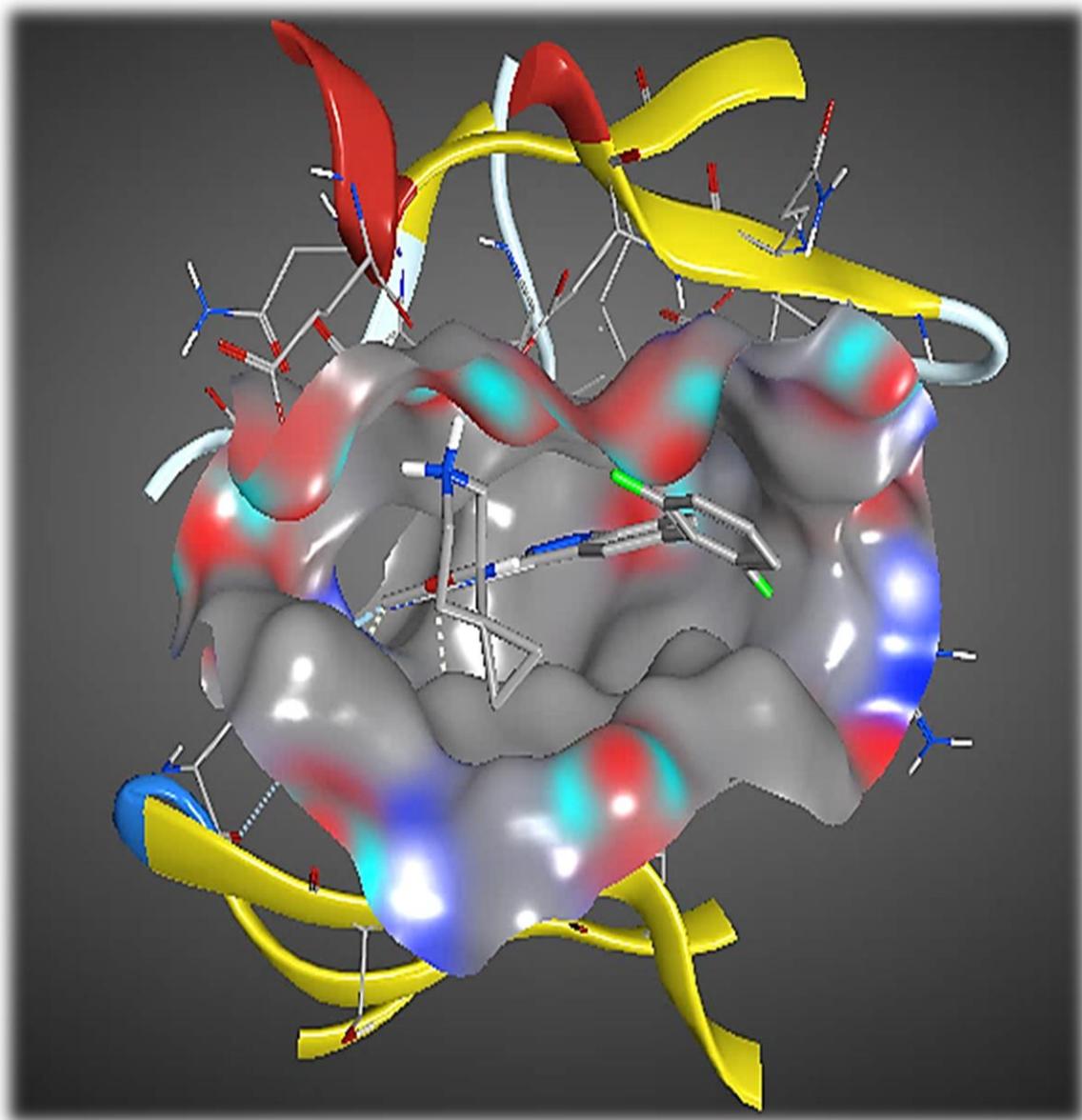
L'interaction entre une protéine et son inhibiteur est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Dans notre étude la protéine (ID : 4WRS) était considérée comme rigide, tandis que les composés de la série de 3-(pyrazin-2-yl) -1H-indazoles étaient considérés comme flexibles.

Afin de rechercher les meilleurs sites de liaison dans la protéine, nous avons utilisé le MOE, qu'il est défini la cavité pour nous, il comprend un outil pour la détection de la cavité enzymatique. Nous avons choisi la cavité en Figure 4 pour notre étude parce qu'elle a le plus grand volume et le ligand qui est co-cristallisé. Les résidus de la cavité détectée par le logiciel MOE ont été résumés dans le tableau4.

**Tableau 4** : Résidus de la première cavité détectée par **MOE** du **4WRS**.

| Cavité | Taille <sup>a</sup> | PLB <sup>b</sup> | Hyd <sup>c</sup> | Côté <sup>d</sup> | Résidus  |
|--------|---------------------|------------------|------------------|-------------------|--|
| 1      | 195                 | 3.60             | 56               | 100               | 1:(LEU44 GLY45 GLY48 PHE49 GLY50 VAL52 ALA65 LYS67 VAL69 ARG73 ILE74 SER75 ASP76 PRO87 MET88 GLU89 LEU93 ILE104 LEU120 GLU121 ARG122 PRO123 VAL126 GLN127 ASP128 PHE130 ASP131 ARG166 ASP167 LYS169 GLU171 ASN172 LEU174 ILE185 ASP186 PHE187 GLY188 SER189 GLY190 ASP200 PHE201 ASP202 GLY203 THR204) |

**a** : le nombre de sphères alpha comprenant le site, **b**:le score de Propension pour le ligand pour les résidus de contact dans le récepteur, **c**: le nombre d'atomes de contact hydrophobes dans le récepteur , **d**: le nombre d'atomes de contact de la chaîne latérale dans le récepteur [1]



**Figure 3** : Modèle simplifié et la cavité choisie du récepteur à la kinase PIM-1.

L'énergies de score et l'interactions entre les dérivés de l'indazole et les résidus du site actif de la protéine (ID : 4WRS) sont rassembler dans le tableau 5.

Selon Imberty et al les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1 Å sont considérées comme fortes, celles comprises entre 3.1 Å et 3.55 Å sont supposées moyennes et les interactions supérieures à 3.55 Å sont faibles [12].

**Tableau 5 :** Scores et interactions entre les dérivés de l'indazole sélectionnés et les résidus du site actif de la protéine (ID : 4WRS).

| Ligand     | Pim-1<br>IC <sub>50</sub><br>(nM) | RMSD          | S-score<br>(Kcal/mol) | Liaisons entre les atomes de ligands et les résidus du site actif |                          |                      |                     |                 |                        |
|------------|-----------------------------------|---------------|-----------------------|---|--------------------------|----------------------|---------------------|-----------------|------------------------|
|            |                                   |               |                       | Atome de<br>ligand  | Atome<br>de<br>récepteur | Résidus<br>impliqués | Type<br>interaction | Distance<br>(Å) | Energies<br>(Kcal/mol) |
| <b>3</b>   | <b>3</b>                          | <b>1.5185</b> | <b>-7.2352</b>        | <b>N 21</b>   | <b>O</b>                 | <b>GLU 121</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>3.31</b>     | <b>-2.2</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 39</b>   | <b>O</b>                 | <b>HOH 552</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>2.94</b>     | <b>-2.5</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 39</b>   | <b>O</b>                 | <b>HOH 578</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>2.98</b>     | <b>-0.2</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>6-ring</b>   | <b>CG2</b>               | <b>VAL 52</b>        | <b>pi-H</b>         | <b>3.69</b>     | <b>-0.6</b>            |
| <b>13a</b> | <b>2</b>                          | <b>1.1594</b> | <b>-7.7350</b>        | <b>N 47</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 128</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>3.01</b>     | <b>-0.8</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 47</b>   | <b>O</b>                 | <b>HOH 562</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>2.93</b>     | <b>-2.6</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 47</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 128</b>       | <b>ionic</b>        | <b>3.01</b>     | <b>-4.4</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 47</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 131</b>       | <b>ionic</b>        | <b>4.00</b>     | <b>-0.5</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>5-ring</b>   | <b>CG1</b>               | <b>VAL 52</b>        | <b>pi-H</b>         | <b>4.25</b>     | <b>-0.6</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>6-ring</b>   | <b>CG2</b>               | <b>VAL 52</b>        | <b>pi-H</b>         | <b>3.77</b>     | <b>-1.1</b>            |
| <b>13b</b> | <b>11</b>                         | <b>1.0937</b> | <b>-7.8447</b>        | <b>N 21</b>   | <b>O</b>                 | <b>GLU 121</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>3.09</b>     | <b>-4.4</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 38</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 131</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>3.03</b>     | <b>-7.2</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 38</b>   | <b>O</b>                 | <b>HOH 607</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>2.94</b>     | <b>-3.5</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 38</b>   | <b>OD1</b>               | <b>ASP 128</b>       | <b>ionic</b>        | <b>3.94</b>     | <b>-0.6</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 38</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 128</b>       | <b>ionic</b>        | <b>3.01</b>     | <b>-4.4</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 38</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 131</b>       | <b>ionic</b>        | <b>3.03</b>     | <b>-4.3</b>            |
| <b>13c</b> | <b>11</b>                         | <b>1.9516</b> | <b>-7.4636</b>        | <b>N 43</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 128</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>2.81</b>     | <b>-3.2</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 43</b>   | <b>O</b>                 | <b>HOH 607</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>3.00</b>     | <b>0.0</b>             |
|            |                                   |               |                       | <b>N 43</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 128</b>       | <b>ionic</b>        | <b>2.81</b>     | <b>-5.8</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 43</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 131</b>       | <b>ionic</b>        | <b>3.92</b>     | <b>-0.7</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>6-ring</b>   | <b>CB</b>                | <b>LEU 44</b>        | <b>pi-H</b>         | <b>4.33</b>     | <b>-0.6</b>            |
| <b>13d</b> | <b>7</b>                          | <b>1.9451</b> | <b>-7.7522</b>        | <b>N 21</b>   | <b>O</b>                 | <b>GLU 121</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>3.12</b>     | <b>-2.9</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>C 37</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 128</b>       | <b>H-donor</b>      | <b>3.15</b>     | <b>-1.2</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 38</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 128</b>       | <b>ionic</b>        | <b>3.27</b>     | <b>-2.9</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>N 38</b>   | <b>OD2</b>               | <b>ASP 131</b>       | <b>ionic</b>        | <b>3.86</b>     | <b>-0.8</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>6-ring</b>   | <b>CD1</b>               | <b>LEU 44</b>        | <b>pi-H</b>         | <b>3.75</b>     | <b>-0.6</b>            |
| <b>13e</b> | <b>44</b>                         | <b>1.6874</b> | <b>-7.8198</b>        | <b>O 47</b>   | <b>NZ</b>                | <b>LYS 67</b>        | <b>H-acceptor</b>   | <b>2.99</b>     | <b>-4.8</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>C 37</b>   | <b>6-ring</b>            | <b>PHE 49</b>        | <b>H-pi</b>         | <b>4.09</b>     | <b>-0.6</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>5-ring</b>   | <b>CD1</b>               | <b>LEU 44</b>        | <b>pi-H</b>         | <b>3.73</b>     | <b>-0.8</b>            |
|            |                                   |               |                       | <b>6-ring</b>   | <b>CD1</b>               | <b>LEU 174</b>       | <b>pi-H</b>         | <b>3.60</b>     | <b>-0.6</b>            |

|            |           |               |                |               |               |                |                  |             |              |
|------------|-----------|---------------|----------------|---------------|---------------|----------------|------------------|-------------|--------------|
| <b>13f</b> | <b>2</b>  | <b>1.8272</b> | <b>-7.2254</b> | <b>N 39</b>   | <b>O</b>      | <b>HOH 607</b> | <b>H-donor</b>   | <b>2.92</b> | <b>0.9</b>   |
|            |           |               |                | <b>N 39</b>   | <b>OD1</b>    | <b>ASP 131</b> | <b>ionic</b>     | <b>3.50</b> | <b>-1.9</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 39</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 131</b> | <b>ionic</b>     | <b>2.96</b> | <b>-4.7</b>  |
|            |           |               |                | <b>6-ring</b> | <b>CG1</b>    | <b>VAL 52</b>  | <b>pi-H</b>      | <b>4.40</b> | <b>-0.7</b>  |
|            |           |               |                | <b>6-ring</b> | <b>CG2</b>    | <b>VAL 52</b>  | <b>pi-H</b>      | <b>4.16</b> | <b>-0.6</b>  |
|            |           |               |                | <b>5-ring</b> | <b>CG2</b>    | <b>VAL 52</b>  | <b>pi-H</b>      | <b>3.93</b> | <b>-0.8</b>  |
|            |           |               |                | <b>5-ring</b> | <b>NZ</b>     | <b>LYS 67</b>  | <b>pi-cation</b> | <b>4.76</b> | <b>-1.5</b>  |
|            |           |               |                | <b>5-ring</b> | <b>6-ring</b> | <b>PHE 49</b>  | <b>pi-pi</b>     | <b>4.00</b> | <b>-0.0</b>  |
| <b>13g</b> | <b>2</b>  | <b>1.4059</b> | <b>-7.3739</b> | <b>N 38</b>   | <b>O</b>      | <b>HOH 635</b> | <b>H-donor</b>   | <b>3.14</b> | <b>-2.0</b>  |
|            |           |               |                | <b>C 41</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 128</b> | <b>H-donor</b>   | <b>2.97</b> | <b>-1.6</b>  |
|            |           |               |                | <b>C 41</b>   | <b>O</b>      | <b>HOH 592</b> | <b>H-donor</b>   | <b>3.21</b> | <b>-0.7</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 38</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 128</b> | <b>ionic</b>     | <b>3.70</b> | <b>-1.2</b>  |
|            |           |               |                | <b>5-ring</b> | <b>CD2</b>    | <b>LEU 44</b>  | <b>pi-H</b>      | <b>3.85</b> | <b>-1.5</b>  |
| <b>13h</b> | <b>3</b>  | <b>1.5224</b> | <b>-7.5223</b> | <b>N 37</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 128</b> | <b>H-donor</b>   | <b>2.85</b> | <b>-16.9</b> |
|            |           |               |                | <b>N 37</b>   | <b>O</b>      | <b>GLU 171</b> | <b>H-donor</b>   | <b>3.07</b> | <b>-3.0</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 37</b>   | <b>O</b>      | <b>HOH 592</b> | <b>H-donor</b>   | <b>3.12</b> | <b>-0.6</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 37</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 128</b> | <b>ionic</b>     | <b>2.85</b> | <b>-5.6</b>  |
|            |           |               |                | <b>C 9</b>    | <b>6-ring</b> | <b>PHE 49</b>  | <b>H-pi</b>      | <b>3.60</b> | <b>-0.6</b>  |
|            |           |               |                | <b>5-ring</b> | <b>CD1</b>    | <b>LEU 44</b>  | <b>pi-H</b>      | <b>4.02</b> | <b>-0.7</b>  |
| <b>13i</b> | <b>15</b> | <b>1.4361</b> | <b>-7.2491</b> | <b>N 33</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 128</b> | <b>H-donor</b>   | <b>3.46</b> | <b>-0.7</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 43</b>   | <b>O</b>      | <b>HOH 607</b> | <b>H-donor</b>   | <b>2.87</b> | <b>-2.9</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 43</b>   | <b>OD1</b>    | <b>ASP 131</b> | <b>ionic</b>     | <b>3.94</b> | <b>-0.6</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 43</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 131</b> | <b>ionic</b>     | <b>3.11</b> | <b>-3.8</b>  |
|            |           |               |                | <b>6-ring</b> | <b>CG1</b>    | <b>VAL 52</b>  | <b>pi-H</b>      | <b>4.30</b> | <b>-0.8</b>  |
|            |           |               |                | <b>5-ring</b> | <b>CG2</b>    | <b>VAL 52</b>  | <b>pi-H</b>      | <b>3.92</b> | <b>-0.7</b>  |
|            |           |               |                | <b>5-ring</b> | <b>NZ</b>     | <b>LYS 67</b>  | <b>pi-cation</b> | <b>4.87</b> | <b>-1.2</b>  |
| <b>13j</b> | <b>8</b>  | <b>1.6201</b> | <b>-7.1411</b> | <b>N 44</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 128</b> | <b>H-donor</b>   | <b>2.85</b> | <b>-5.8</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 44</b>   | <b>O</b>      | <b>HOH 562</b> | <b>H-donor</b>   | <b>2.93</b> | <b>-4.7</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 44</b>   | <b>OD1</b>    | <b>ASP 128</b> | <b>ionic</b>     | <b>3.98</b> | <b>-0.6</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 44</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 128</b> | <b>ionic</b>     | <b>2.85</b> | <b>-5.6</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 44</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 131</b> | <b>ionic</b>     | <b>3.99</b> | <b>-0.5</b>  |
|            |           |               |                | <b>6-ring</b> | <b>CG1</b>    | <b>VAL 52</b>  | <b>pi-H</b>      | <b>4.22</b> | <b>-0.8</b>  |
|            |           |               |                | <b>5-ring</b> | <b>6-ring</b> | <b>PHE 49</b>  | <b>pi-pi</b>     | <b>3.83</b> | <b>-0.0</b>  |
| <b>13k</b> | <b>7</b>  | <b>1.1179</b> | <b>-8.2328</b> | <b>N 42</b>   | <b>OD2</b>    | <b>ASP 128</b> | <b>H-donor</b>   | <b>3.16</b> | <b>-2.9</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 42</b>   | <b>O</b>      | <b>GLU 171</b> | <b>H-donor</b>   | <b>3.08</b> | <b>-1.3</b>  |
|            |           |               |                | <b>N 42</b>   | <b>O</b>      | <b>HOH 592</b> | <b>H-donor</b>   | <b>2.98</b> | <b>-5.7</b>  |

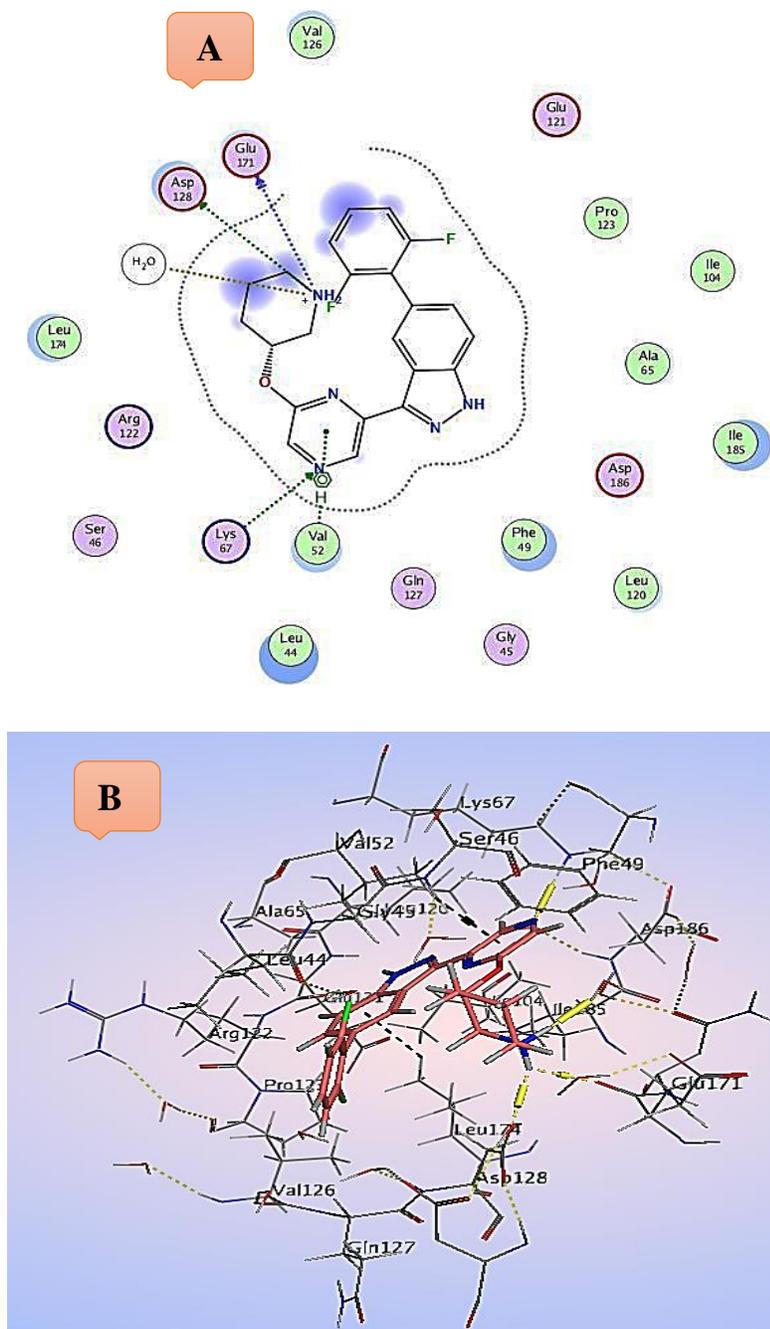
|     |     |        |         |        |        |         |            |      |       |
|-----|-----|--------|---------|--------|--------|---------|------------|------|-------|
|     |     |        |         | N 5    | NZ     | LYS 67  | H-acceptor | 3.20 | -6.9  |
|     |     |        |         | N 42   | OD2    | ASP 128 | ionic      | 3.16 | -3.5  |
|     |     |        |         | 6-ring | CG2    | VAL 52  | pi-H       | 3.90 | -1.4  |
| 13l | 3   | 1.2554 | -7.6625 | C 34   | O      | HOH 607 | H-donor    | 3.18 | -0.4  |
|     |     |        |         | N 39   | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 2.83 | -8.9  |
|     |     |        |         | N 39   | OD2    | ASP 128 | ionic      | 2.83 | -5.8  |
|     |     |        |         | 6-ring | CB     | LEU 44  | pi-H       | 4.03 | -0.6  |
|     |     |        |         | 6-ring | CD2    | LEU 44  | pi-H       | 4.21 | -0.6  |
| 13m | 1.0 | 1.8504 | -7.5758 | C 34   | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 2.96 | -0.8  |
|     |     |        |         | N 39   | OD2    | ASP 131 | H-donor    | 3.10 | -8.7  |
|     |     |        |         | N 39   | OD2    | ASP 128 | ionic      | 3.82 | -0.9  |
|     |     |        |         | N 39   | OD2    | ASP 131 | ionic      | 3.10 | -3.9  |
|     |     |        |         | 6-ring | CG1    | VAL 52  | pi-H       | 4.67 | -0.6  |
| 13n | 3   | 1.7207 | -7.9613 | N 39   | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 2.81 | -17.4 |
|     |     |        |         | C 42   | O      | HOH 592 | H-donor    | 3.24 | -0.6  |
|     |     |        |         | N 39   | OD2    | ASP 128 | ionic      | 2.81 | -5.9  |
|     |     |        |         | 6-ring | CD2    | LEU 44  | pi-H       | 4.17 | -0.6  |
| 13o | 0.4 | 1.2956 | -7.2241 | N 5    | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 3.27 | -0.8  |
|     |     |        |         | N 5    | O      | HOH 607 | H-donor    | 3.32 | -1.7  |
|     |     |        |         | C 8    | OD2    | ASP 131 | H-donor    | 3.23 | -0.7  |
|     |     |        |         | N 5    | OD2    | ASP 128 | ionic      | 3.27 | -2.9  |
|     |     |        |         | N 5    | OD2    | ASP 131 | ionic      | 3.92 | -0.7  |
|     |     |        |         | 6-ring | CG1    | VAL 52  | pi-H       | 4.24 | -0.7  |
|     |     |        |         | 5-ring | 6-ring | PHE 49  | pi-pi      | 3.95 | -0.0  |
| 13p | 25  | 1.4361 | -7.9308 | N 5    | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 2.86 | -14.0 |
|     |     |        |         | N 5    | O      | GLU 171 | H-donor    | 2.89 | -1.7  |
|     |     |        |         | N 5    | O      | HOH 592 | H-donor    | 3.07 | -1.5  |
|     |     |        |         | N 5    | OD2    | ASP 128 | ionic      | 2.86 | -5.5  |
|     |     |        |         | 5-ring | CD1    | LEU 44  | pi-H       | 4.10 | -0.6  |
| 18a | 0.9 | 1.1534 | -7.4568 | N 5    | O      | GLU 171 | H-donor    | 2.89 | -5.0  |
|     |     |        |         | N 5    | O      | HOH 592 | H-donor    | 2.97 | -4.4  |
|     |     |        |         | N 5    | OD2    | ASP 128 | ionic      | 2.95 | -4.8  |
|     |     |        |         | 6-ring | CG1    | VAL 52  | pi-H       | 4.24 | -0.8  |
|     |     |        |         | 6-ring | CG2    | VAL 52  | pi-H       | 4.26 | -0.7  |
| 18b | 1.6 | 1.0771 | -6.1611 | N 5    | OD1    | ASP 131 | H-donor    | 2.99 | -1.0  |
|     |     |        |         | N 5    | OD1    | ASP 131 | ionic      | 2.99 | -4.5  |

|            |            |               |                |        |     |         |            |      |      |
|------------|------------|---------------|----------------|--------|-----|---------|------------|------|------|
|            |            |               |                | 5-ring | CB  | LEU 44  | pi-H       | 3.99 | -1.7 |
| <b>18c</b> | <b>4</b>   | <b>1.2426</b> | <b>-7.8736</b> | N 5    | OD2 | ASP 128 | H-donor    | 2.98 | -1.2 |
|            |            |               |                | N 5    | O   | GLU 171 | H-donor    | 2.90 | -3.9 |
|            |            |               |                | N 5    | O   | HOH 592 | H-donor    | 2.92 | -5.9 |
|            |            |               |                | N 5    | OD2 | ASP 128 | ionic      | 2.98 | -4.6 |
|            |            |               |                | 6-ring | CG2 | VAL 52  | pi-H       | 4.01 | -1.2 |
|            |            |               |                | 5-ring | CD1 | LEU 174 | pi-H       | 3.79 | -0.8 |
|            |            |               |                | 6-ring | CD1 | ILE 185 | pi-H       | 3.50 | -0.6 |
| <b>18d</b> | <b>2</b>   | <b>1.2784</b> | <b>-6.9362</b> | N 5    | OD2 | ASP 128 | H-donor    | 2.88 | -7.0 |
|            |            |               |                | N 5    | O   | GLU 171 | H-donor    | 2.94 | -7.1 |
|            |            |               |                | N 5    | OD2 | ASP 128 | ionic      | 2.88 | -5.3 |
|            |            |               |                | 6-ring | CD1 | LEU 44  | pi-H       | 4.38 | -0.6 |
|            |            |               |                | 6-ring | OG  | SER 54  | pi-H       | 4.10 | -0.6 |
| <b>18e</b> | <b>4</b>   | <b>1.9054</b> | <b>-7.7508</b> | N 5    | OD2 | ASP 128 | H-donor    | 2.98 | -0.9 |
|            |            |               |                | N 5    | O   | GLU 171 | H-donor    | 2.89 | -4.3 |
|            |            |               |                | N 5    | O   | HOH 592 | H-donor    | 2.93 | -5.6 |
|            |            |               |                | N 5    | OD2 | ASP 128 | ionic      | 2.98 | -4.6 |
|            |            |               |                | 6-ring | CG2 | VAL 52  | pi-H       | 4.03 | -1.1 |
|            |            |               |                | 5-ring | CD1 | LEU 174 | pi-H       | 3.83 | -0.7 |
| <b>18f</b> | <b>3</b>   | <b>1.3348</b> | <b>-7.0629</b> | N 5    | O   | HOH 578 | H-donor    | 3.42 | -0.1 |
|            |            |               |                | N 48   | NZ  | LYS 67  | H-acceptor | 3.54 | -1.6 |
|            |            |               |                | N 5    | OE1 | GLU 124 | ionic      | 3.66 | -1.3 |
|            |            |               |                | N 5    | OE2 | GLU 124 | ionic      | 3.55 | -1.7 |
|            |            |               |                | 6-ring | CG2 | VAL 52  | pi-H       | 3.70 | -0.8 |
| <b>18g</b> | <b>15</b>  | <b>1.1770</b> | <b>-7.4634</b> | N 47   | NZ  | LYS 67  | H-acceptor | 3.20 | -6.1 |
|            |            |               |                | 6-ring | CG1 | VAL 52  | pi-H       | 4.16 | -0.6 |
|            |            |               |                | 5-ring | CG2 | VAL 52  | pi-H       | 3.87 | -0.9 |
|            |            |               |                | 5-ring | CD1 | ILE 185 | pi-H       | 3.93 | -0.7 |
| <b>18h</b> | <b>3</b>   | <b>1.7884</b> | <b>-6.7077</b> | N 5    | OD2 | ASP 128 | H-donor    | 2.79 | -1.6 |
|            |            |               |                | N 5    | OD2 | ASP 128 | ionic      | 2.79 | -6.0 |
|            |            |               |                | N 46   | OE2 | GLU 124 | ionic      | 3.51 | -1.8 |
|            |            |               |                | 6-ring | CD1 | LEU 44  | pi-H       | 4.21 | -0.7 |
| <b>18i</b> | <b>0.2</b> | <b>1.1834</b> | <b>-7.7703</b> | N 5    | OD2 | ASP 128 | H-donor    | 2.97 | -1.1 |
|            |            |               |                | N 5    | O   | GLU 171 | H-donor    | 2.89 | -4.0 |
|            |            |               |                | N 5    | O   | HOH 592 | H-donor    | 2.93 | -5.7 |
|            |            |               |                | N 5    | OD2 | ASP 128 | ionic      | 2.97 | -4.7 |

|       |     |        |         |        |        |         |            |      |       |
|-------|-----|--------|---------|--------|--------|---------|------------|------|-------|
|       |     |        |         | 6-ring | CG2    | VAL 52  | pi-H       | 4.04 | -1.0  |
|       |     |        |         | 5-ring | CD1    | LEU 174 | pi-H       | 3.82 | -0.7  |
| 18j   | 0.4 | 1.2521 | -7.7796 | N 5    | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 2.97 | -1.1  |
|       |     |        |         | N 5    | O      | GLU 171 | H-donor    | 2.90 | -4.0  |
|       |     |        |         | N 5    | O      | HOH 592 | H-donor    | 2.93 | -5.7  |
|       |     |        |         | N 5    | OD2    | ASP 128 | ionic      | 2.97 | -4.7  |
|       |     |        |         | 6-ring | CG2    | VAL 52  | pi-H       | 4.03 | -1.0  |
|       |     |        |         | 5-ring | CD1    | LEU 174 | pi-H       | 3.81 | -0.7  |
| 18k   | 0.5 | 1.8587 | -7.0885 | N 43   | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 3.19 | -6.1  |
|       |     |        |         | N 43   | O      | HOH 607 | H-donor    | 2.88 | 0.4   |
|       |     |        |         | N 43   | O      | HOH 635 | H-donor    | 3.00 | -0.0  |
|       |     |        |         | O 33   | NZ     | LYS 67  | H-acceptor | 3.63 | -1.4  |
|       |     |        |         | N 43   | OD2    | ASP 128 | ionic      | 3.19 | -3.3  |
|       |     |        |         | 6-ring | CG1    | VAL 52  | pi-H       | 4.17 | -0.7  |
| 18l   | 1.4 | 1.6630 | -7.8282 | N 5    | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 2.99 | -1.0  |
|       |     |        |         | N 5    | O      | GLU 171 | H-donor    | 2.90 | -4.2  |
|       |     |        |         | N 5    | O      | HOH 592 | H-donor    | 2.93 | -5.7  |
|       |     |        |         | N 5    | OD2    | ASP 128 | ionic      | 2.99 | -4.6  |
|       |     |        |         | 6-ring | CG2    | VAL 52  | pi-H       | 4.03 | -1.1  |
|       |     |        |         | 5-ring | CD1    | LEU 174 | pi-H       | 3.80 | -0.7  |
| 18m   | 0.3 | 1.8455 | -7.6096 | C 2    | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 3.12 | -2.9  |
|       |     |        |         | O 56   | O      | HOH 552 | H-acceptor | 2.99 | -1.6  |
|       |     |        |         | N 5    | OE2    | GLU 171 | ionic      | 3.88 | -0.8  |
|       |     |        |         | C 28   | 6-ring | PHE 49  | H-pi       | 3.76 | -0.6  |
|       |     |        |         | 6-ring | CG2    | VAL 52  | pi-H       | 4.06 | -1.0  |
|       |     |        |         | 5-ring | CD1    | LEU 174 | pi-H       | 3.84 | -0.7  |
|       |     |        |         | 6-ring | CD1    | ILE 185 | pi-H       | 3.50 | -0.6  |
| L réf | 0.1 | 1.7368 | -6.9781 | N24 34 | OD2    | ASP 128 | H-donor    | 2.96 | -11.5 |
|       |     |        |         | N24 34 | O      | HOH 592 | H-donor    | 3.01 | -4.8  |
|       |     |        |         | N18 34 | NZ     | LYS 67  | H-acceptor | 3.27 | -6.9  |
|       |     |        |         | N24 34 | OD2    | ASP 128 | ionic      | 2.96 | -4.7  |
|       |     |        |         | 6-ring | CG2    | VAL 52  | pi-H       | 3.92 | -0.9  |

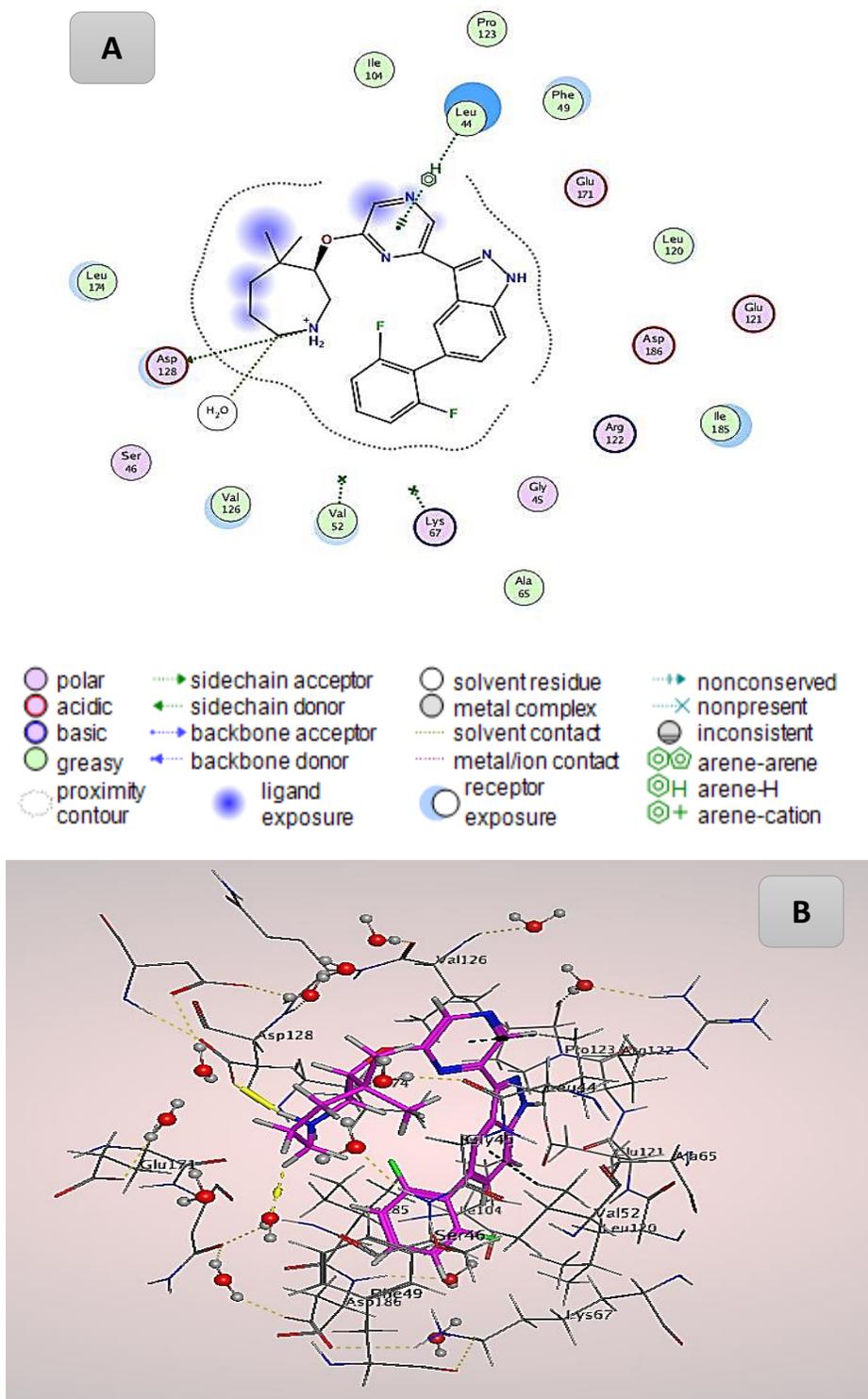
Selon les résultats du tableau 5, les scores pour tous les composés sont compris entre [-8.2328, -6.1611] Kcal/mol. On remarque aussi, sur ce tableau, que les composés 13k, 13n, 13p,

18c,13b et 18l forment les complexes ayant les énergies les plus faibles par rapport aux autres complexes. De plus leurs scores sont plus faibles que celui de ligand de référence, ce qui leur confère les conformations les plus stables.



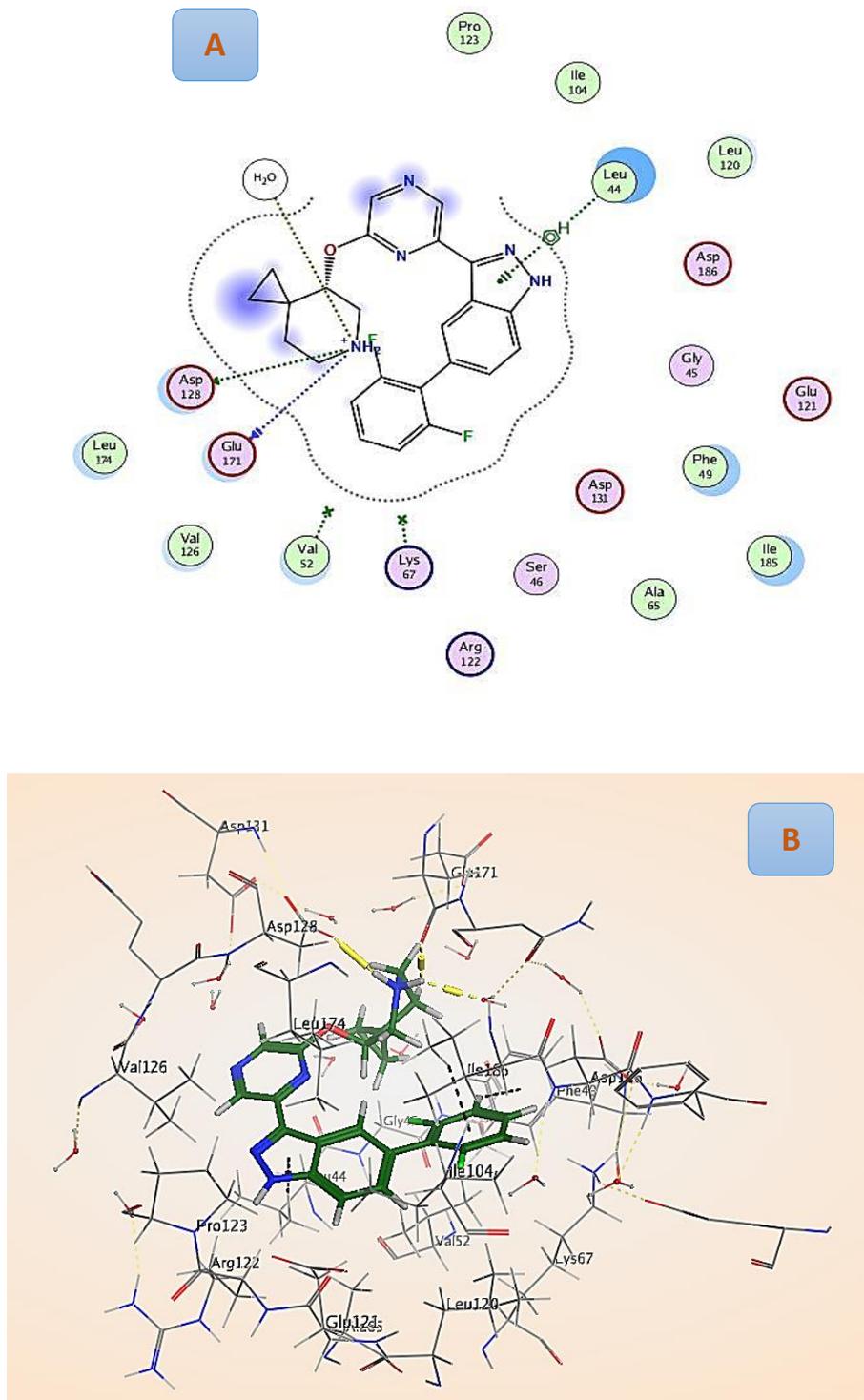
➤ Le complexe formé par le composé **13k** (figure 4) a une faible énergie de Score **(-8.2328 Kcal/mol)**. Ce composé a le meilleur score de docking moléculaire par rapport aux autres composés. Il forme six interactions avec les résidus du site actif de la protéine (ID : 4WRS). Deux fortes liaisons hydrogènes avec le résidu GLU 171 (3.08 Å) et HOH 592 (2.98 Å) et deux liaisons hydrogènes modérées avec les résidus ASP 128 (3.16 Å) et LYS 67 (3.20 Å). Une interaction modérée du type ionique entre N42 de ce composé et OD2 du résidu ASP 128 avec une distance de 3.16 Å et une faible interaction de type pi-H entre ring 6 et CG2 du résidu VAL 52.

**Figure 4 :** Interactions entre le ligand **13k** et les résidus de site actif de la protéine (ID : **4WRS**). (Images (A) 2D et (B) 3D).



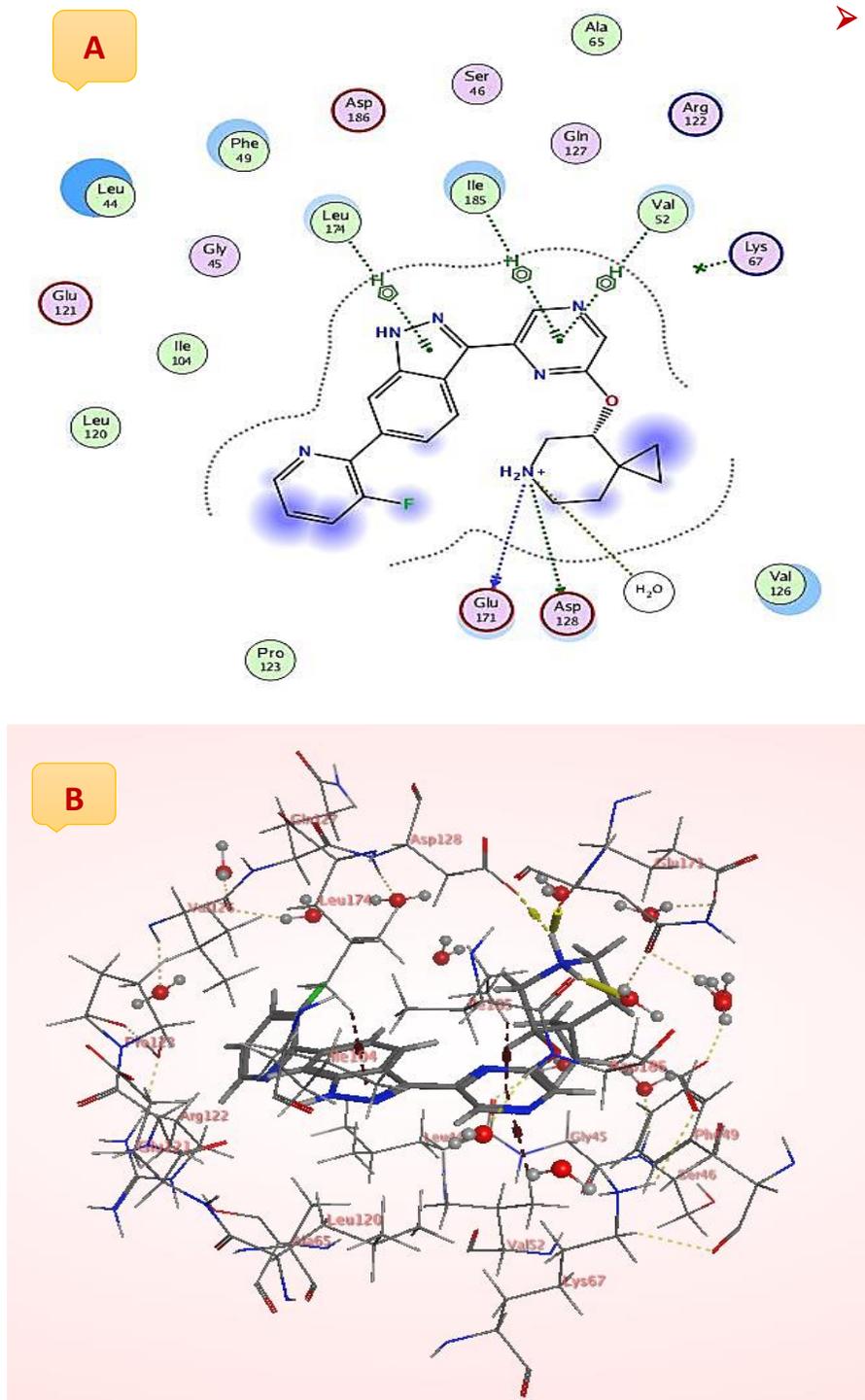
➤ Le complexe formé par le composé **13n** (**figure 5**) a une énergie de Score **(-7.9613 Kcal/mol)**. Ce composé forme quatre interactions : une forte liaison hydrogène avec une distance de 2.81 Å entre N 39 de ce ligand et OD2 du résidu ASP 128, une liaison hydrogène modérée (3.24 Å) entre C42 et l'atome d'oxygène du HOH 592, une autre liaison forte du type ionique avec une distance de 2.81 Å entre N 39 et OD2 du résidu ASP 128, et la dernière faible interaction de type pi-H entre 6-ring et CD2 du résidu LEU 44.

**Figure 5 :** Interactions entre le ligand **13n** et les résidus de site actif de la protéine (**ID : 4WRS**). (Images (A) 2D et (B) 3D).



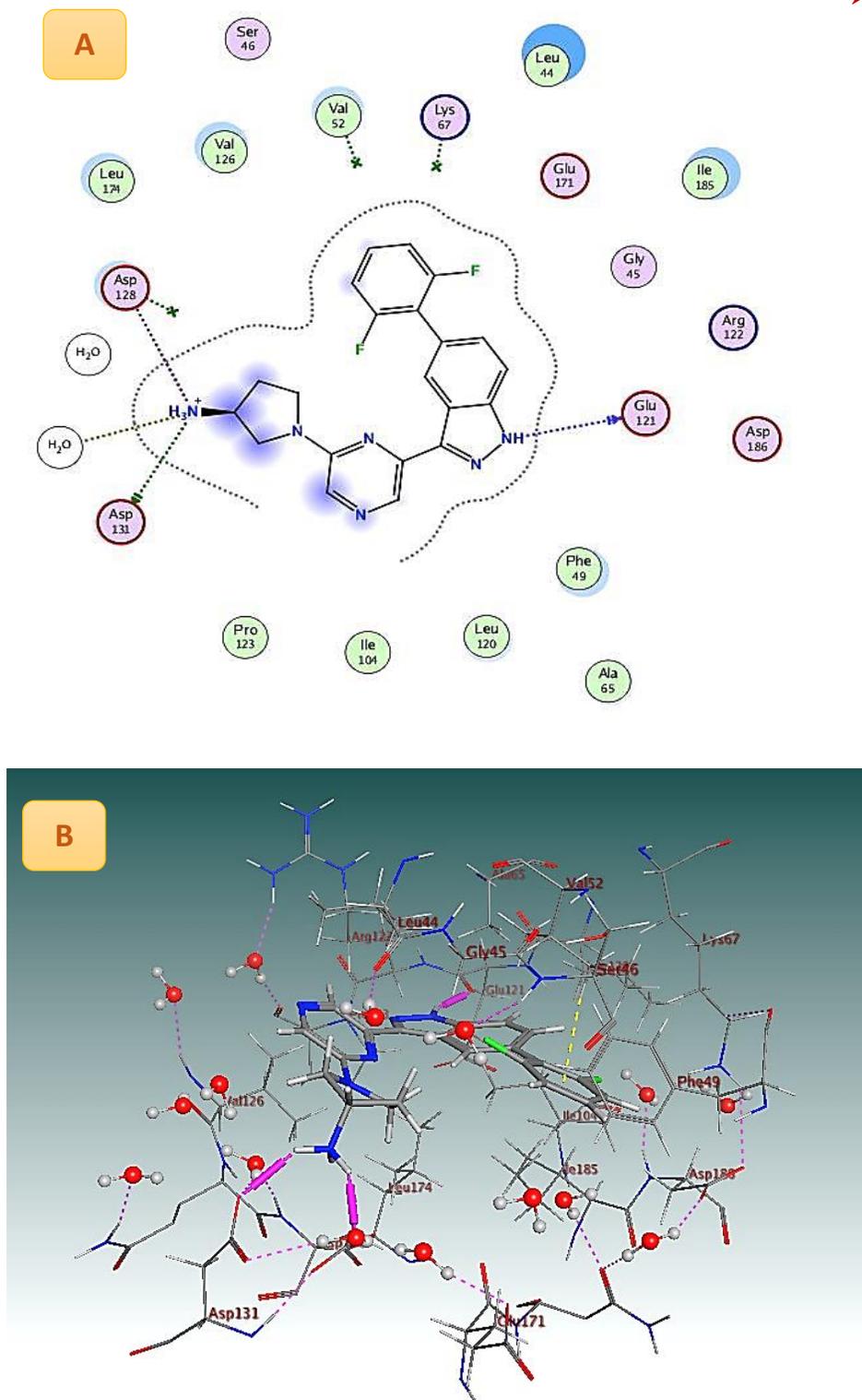
- Le complexe formé par le composé **13p** (**figure 6**) a une énergie de Score **(-7.9308 Kcal/mol)**. Ce composé forme quatre interactions fortes : Trois fortes liaisons hydrogènes de type H-donneur avec les résidus ASP 128 (2.86 Å), GLU 171 (2.89 Å) et HOH 592 (3.07 Å). Une forte interaction de type ionique entre l'atome de ligand N 5 et OD2 du résidu ASP 128 avec une distance 2.86 Å. De plus, une liaison faible de type pi-H entre ring-5 et CD1 du résidu LEU 44 d'une distance 4.10 Å.

**Figure 6** : Interactions entre le ligand **13p** et les résidus de site actif de la protéine (**ID : 4WRS**). (Images (A) 2D et (B) 3D).



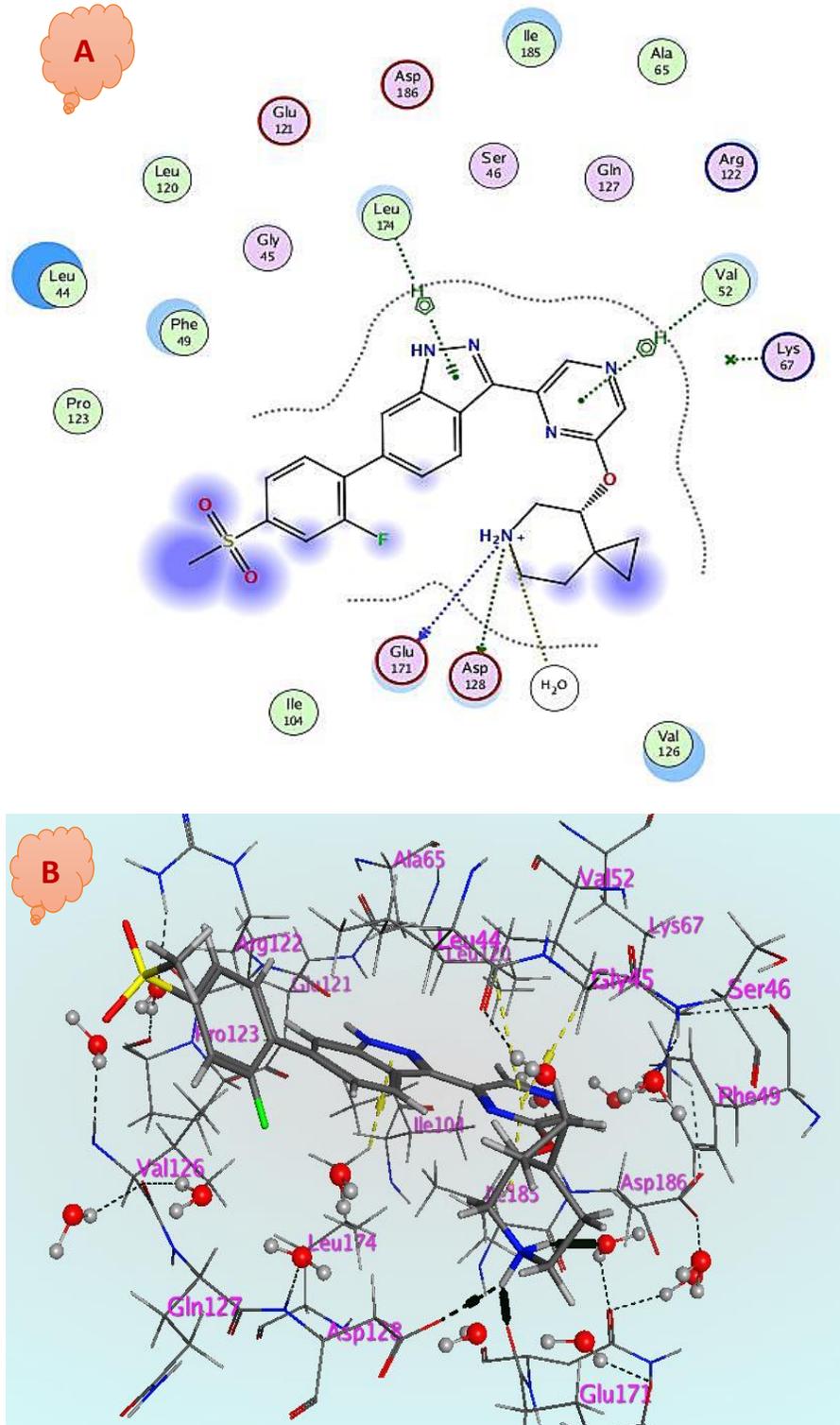
- Le complexe formé par le composé **18c** (figure 7) a une énergie de Score **(-7.8736 Kcal/mol)**. Ce composé forme trois fortes liaisons hydrogénées. La première entre N 5 de ce composé et OD2 du résidu ASP 128 (2.98 Å) et les deux autre entre N 5 du ligand et O des résidus GLU 171et HOH 592 avec des distances 2.90, 2.92 Å respectivement. Une liaison forte du type ionique entre N 5 du composé 18c et OD2 du résidu ASP 128 (2.98 Å). Trois interactions de type pi-H, avec les résidus VAL 52 (4.01 Å), ILE 185 (3.50 Å) et LEU 174 (3.79 Å).

**Figure 7 :** Interactions entre le ligand **18c** et les résidus de site actif de la protéine (**ID : 4WRS**). (Images (A) 2D et (B) 3D).



➤ Le complexe formé par le composé **13b** (**figure 8**) a une énergie de Score **(-7.8447 Kcal/mol)**. Ce composé forme trois liaisons hydrogénées fortes avec les résidus GLU 121 (3.09 Å), ASP 131 (3.03 Å) et HOH 607 pour une distance de 2.94 Å. Les trois interactions qu'ils restent ce sont du type ionique : une faible avec OD1 de récepteur du résidu ASP 128 (3.94 Å), les deux autres sont fortes avec le récepteur OD2 des résidus ASP 128 et ASP 131 à de distances 3.01 Å, 3.03 Å respectivement.

**Figure 8 :** Interactions entre le ligand **13b** et les résidus de site actif de la protéine (**ID : 4WRS**). (Images (A) 2D et (B) 3D).



➤ Le complexe formé par le composé **181** (**figure 9**) a une énergie de Score **(-7.8282 Kcal/mol)**. Ce composé forme six interactions. Trois fortes liaisons hydrogènes entre N 5 de composé 181 et les résidus ASP 128 (2.99 Å), GLU 171 (2.90 Å) et HOH 592 (2.93 Å) respectivement. Une forte liaison ionique avec OD2 du résidu ASP 128 d'une distance de 2.99 Å. Les deux interactions restantes sont faibles de type pi-H avec les résidus VAL 52 (4.03 Å) et LEU 174 (3.80 Å). Il a aussi deux liaisons faibles de type pi-H une entre l'atome de ligand 6-ring et CG2 du résidu VAL 52 (4.03 Å) et l'autre entre l'atome de ligand 5-ring et CD1 du résidu LEU 174 (3.80 Å).

**Figure 9** : Interactions entre le ligand **181** et les résidus de site actif de la protéine (**ID** :

**4WRS**). (Images (A) 2D et (B) 3D).

Tous les composés ont des valeurs de RMSD considérés comme acceptables car elles sont inférieures à 2Å.

Les ligands 13n et 18l ont des valeurs de RMSD très proches de celle du ligand de référence, ce qui nous ramène à déduire que ces ligands peuvent inhiber la protéine (ID : 4WRS).

Les six composés ayant les affinités les plus élevées avec la protéine (ID : 4WRS) sont considérés actifs à cause de leurs faibles valeurs d'activité biologiques  $IC_{50}$  qui sont dans la gamme de 1.4 – 25 nM. Le composé 18l est le composé le plus actif parmi les six composés qui ont les meilleures énergies de score.

## IV. Conclusion :

L'étude de docking moléculaire a été effectuée à partir du logiciel MOE pour former les complexes ligand-récepteur et identifier les interactions existantes.

Pour mener à bien cette étude, nous avons combiné entre deux méthodes de la modélisation moléculaire (docking moléculaire) et le calcul des propriétés ADME pour la validation de ces derniers et mieux comprendre le mécanisme d'inhibition de cette maladie.

Le calcul des propriétés ADME montre que tous les 30 composés répondent aux règles de Lipinski et de Veber, ce qui suggère que ces composés n'auront pas, théoriquement, de problème avec la biodisponibilité orale.

Les composés 13k, 13n, 13p, 18c, 13b et 18l forment les complexes qui possèdent les énergies les plus basses par rapport aux autres complexes. Les valeurs de RMSD des composés 13n et 18l sont les plus proches de celle du ligand de référence. Ce qui nous ramène à déduire que ces ligands peuvent inhiber la protéine (ID : 4WRS).

## Références bibliographiques :

- [1] Daissa, F. Contribution à la modélisation des biomolécules et leurs interactions : Inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BChE) / par une nouvelle classe des dérivées. Thèse de master Université Mohamed Khider de Biskra, 2019.
- [2] Hammad, S. Conception par bioinformatique et modelisation moleculaire de nouvelles molecules bioactives dans le domaine du cancer. Thèse de doctorat Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), 2020.
- [3] Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E., The protein data bank. *Nucleic Acids Research* 2000, 28 (1), 235-242.].
- [4] Wang, H.-L.; Cee, V. J.; Chavez Jr, F.; Lanman, B. A.; Reed, A. B.; Wu, B.; Guerrero, N.; Lipford, J. R.; Sastri, C.; Winston, J., The discovery of novel 3-(pyrazin-2-yl)-1H-indazoles as potent pan-Pim kinase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2015, 25 (4), 834-840.
- [5] Hyperchem 7.0, Hypercube Inc.
- [6] Stewart, J. J., Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling* 2007, 13 (12), 1173-1213.
- [7] Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V., SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports* 2017, 7, 42717.
- [8] Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08, chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St, West, Suite 910., Montreal, QC, Canada, H3A2R77, (2014).
- [9] Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J., Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2012, 64, 4-17.
- [10] D. F. Veber, S. R. Johnson, H.Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.* 2002, 45, 2615-23.

[11] Benhamza, S. ; Bassi, S. Identification de nouveaux inhibiteurs de protéine kinase B par criblage virtuel. Thèse de master Université Mohamed Khider de Biskra, 2021.

[12] Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Perez:” Molecular of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A”, G L Y C O B I O L O G Y, 1, 631–642. 1991.

## CONCLUSION GENERAL :

Un objectif important de la chimie pharmaceutique et de la biologie est de comprendre les phénomènes de reconnaissance qui se produisent entre un ligand et un récepteur protéique. Le docking moléculaire est considéré comme l'outil de recherche le plus utile pour les méthodes in silico. L'amarrage a été effectué pour étudier le mode de liaison des ligands actifs sur le récepteur afin d'obtenir des informations pour une optimisation plus poussée de la structure.

L'objectif principal est d'élucider les interactions entre une nouvelle classe des molécules d'une série de 3-(pyrazin-2-yl)-1 H-indazoles et l'enzyme kinase PIM-1 (ID : 4 WRS) afin d'identifier de nouveaux inhibiteurs potentiels qui peuvent être utiles à désigner de nouveaux médicaments contre le myélome multiple.

L'étude des propriétés ADME confirme que tous les composés répondent aux règles de Lipinski et de Veber et ne causent aucun problème de biodisponibilité orale.

Les résultats de docking moléculaire montrent que les six composés 13k, 13n, 13p, 18c, 13b et 18l seraient probablement les meilleurs inhibiteurs pour ralentir l'évolution de la maladie étudiée, et ils peuvent être suggérés comme de nouveaux médicaments.

## Résumé

Une étude de docking moléculaire a été effectuée pour étudier et identifier les interactions entre les différents inhibiteurs d'une nouvelle série de 3-(pyrazin-2-yl)-1 H-indazoles et l'enzyme PIM-1 (ID: 4 WRS) à l'aide du logiciel MOE. Les molécules d'eau ont été laissées dans le modèle afin d'assurer un relais entre les ligands et le site actif du récepteur et de créer des réseaux de liaisons hydrogènes. Le calcul des propriétés ADME montre que tous les 30 composés de la série choisie répondent aux règles de Lipinski et de Veber, ce qui suggère que ces composés ne causent aucun problème de biodisponibilité orale. Les composés 13k, 13n, 13p, 18c, 13b et 18l ont des affinités de liaisons élevées et de nombreuses interactions avec l'enzyme PIM-1 (ID : 4WRS) dans la simulation de docking moléculaire.

**Mots Clés :** ADME, Docking Moléculaire, Indazole, Règles de Lipinski et de Veber, RMSD.

## ABSTRACT

A molecular docking study was carried out to study and identify the interactions between the different inhibitors of a new series of 3-(pyrazin-2-yl)-1 H-indazoles and the enzyme PIM-1 (ID: 4 WRS) using MOE software. The water molecules were left in the model to provide a relay between the ligands and the active site of the receptor and to create networks of hydrogen bonds. The calculation of the ADME properties shows that all 30 compounds in the chosen series meet the Lipinski and Veber rules, suggesting that these compounds do not cause oral bioavailability problems. The compounds 13k, 13n, 13p, 18c, 13b, and 18l have high bonding affinities and many interactions with the enzyme PIM-1 (ID: 4 WRS) in molecular docking simulation.

**Keywords:** ADME, Indazole, Molecular Docking, Lipinski and Veber Rules, RMSD.